RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XX - N. 2 - Giugno 1959

RILIEVI SULLA INCIDENZA DELLE PARASSITOSI INTESTINALI IN UN GRUPPO DI STUDENTI DELL' ATENEO PISANO

G. Carli e P. Mammini (*)

Viene riferito sulla incidenza delle parassitosi intestinali in un gruppo di 550 studenti. Si richiama in particolare l'attenzione sulla diversa incidenza di *E. histolytica* a seconda delle regioni di provenienza degli studenti. Viene anche sottolineata la frequenza delle infezioni da *E. nana* e *G. intestinalis* ed il fatto che possono talora essere causa di disturbi più o meno marcati.

In questi ultimi anni numerosi ricercatori si sono interessati del problema della diffusione delle parassitosi intestinali in vari gruppi di popolazione, cercando sopratutto di mettere in luce gli stretti legami che intercorrono fra incidenza delle parassitosi stesse e condizioni di igiene ambientale e grado di educazione sanitaria.

Scorrendo queste pubblicazioni abbiamo però dovuto notare come prevalentemente siano stati esaminati bambini delle scuole elementari o gruppi di persone viventi in condizioni ambientali piuttosto scadenti (contadini, ortolani, minatori etc.), mentre assai rare sono le ricerche eseguite su soggetti adulti appartenenti a strati sociali con discreto standard di vita.

Abbiamo perciò ritenuto interessante condurre una indagine tra gli studenti universitari, i quali costituiscono senza dubbio una fra le categorie socialmente più evolute e dovrebbero possedere una educazione igienica discreta.

La rilevazione ha avuto inizio nella primavera del 1956 e si è protratta fino al luglio 1958; durante questo periodo sono stati esaminati 550 studenti, iscritti a questa Università, che sono stati sottoposti a controllo medico a cura del Centro di Medicina Preventiva funzionante in questo Istituto per conto dell'Opera Universitaria.

(*) *Istituto d'Igiene "A. Di Vestea" dell'Università di Pisa. Centro di Medicina Preventiva dell'Opera Universitaria* (Direttore: Prof. G. Buonomini).

Materiali e metodi d'indagine impiegati.

L'esame parassitologico è stato condotto sul sedimento di feci normalmente emesse, ottenuto secondo il metodo di arricchimento di Ritchie modificato da Buonomini e coll. (1956).

Questo metodo, dato il tipo di alimentazione dei soggetti controllati, ha fornito sempre ottimi risultati, permettendo di evidenziare contemporaneamente sia le uova di elminti che le cisti di protozoi.

Allorchè nel sedimento venivano repertate cisti di *Entamoeba histolytica* o sospette tali, l'esame veniva ripetuto ed integrato con un esame a fresco su feci da purga salina.

In molti casi fu praticata anche la coltura in terreno di Boeck e Drbolhav secondo la tecnica descritta da Buonomini e Ricciardi (1955).

Trattandosi di soggetti adulti non è stata eseguita la ricerca delle uova di ossiuri a mezzo del *cellophan slide tape* e quindi la percentuale dei casi di questa elmintiasi è risultata certamente più bassa del reale.

Risultati ottenuti.

Dalla indagine eseguita (vedi Tab. 1) è emerso che ben il 52,2% degli studenti controllati risulta parassitato, con un'incidenza delle infezioni da protozoi nel 40,9% dei soggetti e delle infestazioni da elminti nel 20,8%.

E' questa una incidenza realmente ragguardevole ove si consideri la categoria di persone esaminate ed il fenomeno appare, inoltre, ancor più grave se si tiene conto che nel 20,0% dei soggetti si sono riscontrate parassitosi multiple sia protozoarie che elmintiche.

Particolare interesse riveste poi il reperto di 13 studenti (2,4%) affetti da amebiasi.

Per questi soggetti, nei quali la diagnosi parassitologica di *E. histolytica* venne confermata sia con l'esame a fresco, sia con la coltivazione del ceppo in terreno Boeck e Drbohlav, si procedette ad una visita accurata, la quale rivelò in tutti chiari segni di colite cronica, con irregolarità dell'alvo, risentimento epatico di vario grado e lieve anemizzazione.

Sei dei pazienti presentavano stipsi ostinata, ribelle sino allora ad ogni terapia, mentre gli altri 7 avevano periodi di stipsi alternati a periodi caratterizzati da emissione di feci poltacee o francamente diarroiche.

Rimarchevole è stata anche la percentuale dei soggetti parassitati da *Endolimax nana* (24,2%), un certo numero dei quali presentava disturbi ben obiettivabili a carico del colon ed irregolarità dell'alvo.

Questo parassita, ritenuto ancor oggi dalla maggior parte degli Autori di scarso valore patogeno, è invece, a nostro avviso, capace di esplicare, in un

certo numero di casi, una discreta attività patogena, che non è giusto sottovalutare nè tantomeno ignorare.

Tipiche amebe coprozoiche sono state repertate in un discreto numero di casi (*Entamoeba coli* nel 17,3% dei soggetti, *Iodamoeba bütschlii* nel 1,6%) mentre i flagellati, rappresentati quasi esclusivamente da *Giardia intestinalis*, sono stati repertati nel 10,7% dei casi.

Per quanto riguarda gli elminti si può rilevare come le percentuali di infestazione sono in complesso abbastanza modeste, se confrontate alla percentuale delle infezioni protozoarie, ad eccezione della tricocefalosi che ricorre nel 17,8% dei casi.

Al fine di renderci conto se vi fosse qualche differenza nella incidenza delle parassitosi a seconda della zona di origine o di provenienza degli stu-

TABELLA 1.

Incidenza delle parassitosi intestinali in studenti dell'Università di Pisa.

Soggetti controllati					550
Soggetti indenni da parassitosi					263 (47,8%)
			N. dei casi	%	
Soggetti parassitati	con parassitosi singola	Elmintica	56	10,2	
		Protozoaria	121	22,0	177 (32,2%)
	con parassitosi multipla	Elmintica	7	1,3	
		Protozoaria	52	9,5	110 (20,0%)
		Mista	51	9,3	
					287 (52,2%)

Parassiti repertati:

Protozoi	N. dei casi	%	Elminti	N. dei casi	%
Entamoeba histolytica	13	2,4	Ascaris lumbricoides	14	2,5
Entamoeba coli	95	17,3	Enterobius vermicularis (1)	9	1,6
Endolimax nana	133	24,2	Trichuris trichiura	98	17,8
Iodamoeba bütschlii	9	1,6	Hymenolepis nana	1	0,2
Giardia intestinalis	58	10,5	Taenia saginata	2	0,4
Chilomastix mesnili	1	0,2			

(1) I valori della incidenza di *E. vermicularis* sono poco attendibili perchè si riferiscono solo al reperto di uova o adulti nelle feci non essendo stata eseguita la ricerca col tampone anale.

denti, abbiamo suddiviso i 550 soggetti esaminati in quattro gruppi e precisamente:

1° - Studenti dell'Italia Settentrionale.
2° - Studenti dell'Italia Centrale.
3° - Studenti dell'Italia Meridionale ed Insulare.
4° - Studenti stranieri.

Dai dati esposti nella Tabella 2 si può chiaramente constatare come la maggiore incidenza delle parassitosi si sia riscontrata tra gli studenti dell'Italia Meridionale ed Insulare, in confronto a quelli dell'Italia Centrale e Settentrionale, il che sta a documentare sia le più scadenti condizioni di igiene ambientale che si trovano in quelle zone del nostro Paese, sia il ricorrere di situazioni socio-economiche che, entro certi limiti, favoriscono il diffondersi di determinate infezioni o infestazioni.

Speciale significato acquisisce del resto la percentuale veramente elevata di studenti meridionali colpiti sia da parassitosi multiple (37,7%) sia da infezioni protozoarie (44 su 61 esaminati = 72,1%). Tra queste infezioni meritano speciale menzione quella da *E. histolytica* e da *E. nana* riscontrate rispettivamente nel 3,3% e nel 65,6% degli studenti meridionali.

Degna di considerazione è anche la notevole incidenza delle parassitosi (61,3%) tra gli studenti stranieri, con una frequenza veramente cospicua della amebiasi (11,3%).

Quest'ultimo reperto, che denuncia condizioni di vita e d'igiene ambientale non brillanti, è riferibile al fatto che il gruppo di 62 stranieri controllati era prevalentemente costituito da studenti provenienti dalla Grecia, dove si osservano, come è noto, situazioni socio-economiche non certo favorevoli.

Considerazioni e conclusioni.

I risultati di questa indagine documentano anzitutto la importanza e la utilità degli esami coprologici sistematici anche tra gli individui adulti, data la frequenza con cui ricorrono anche in questi le parassitosi intestinali.

L'iniziativa presa dall'Opera dell'Università di Pisa, di eseguire tali esami agli studenti, nel quadro di una più ampia azione di medicina preventiva, è apparsa quanto mai utile, giacchè ha dimostrato come non pochi studenti possano soffrire di turbe varie, specie dell'apparato gastro-enterico, legate a infezioni protozoarie o infestazioni elmintiche sulle quali è possibile intervenire utilmente con cure appropriate, eliminando più gravi conseguenze a distanza o comunque ripristinando condizioni di pieno benessere, cosa importante ai fini del rendimento intellettuale.

Tra le infezioni protozoarie, che ricorrono nel 40,9% dei soggetti, merita particolare attenzione l'amebiasi che incide in maniera discreta (2,3%) ed è più frequente tra gli studenti dell'Italia Meridionale (3,2%).

TABELLA 2.

Incidenza delle parassitosi intestinali in studenti dell'Università di Pisa a seconda della zona di provenienza.

SOGGETTI		Italia Settentrionale		Italia Centrale		Italia Merid. e Insul.		Paesi esteri	
controllati		72		355		61		62	
		N.	%	N.	%	N.	%	N.	%
indenni		36	50,0	192	54,1	11	18,0	24	38,7
con parassitosi singola	Elmintica	12	16,7	36	10,1	5	8,2	3	4,8
	Protozoaria	11	15,3	72	20,3	22	36,1	16	25,8
con parassitosi multipla	Elmintica	1	1,4	5	1,4	1	1,6	—	—
	Protozoaria	5	6,9	22	6,2	9	14.8	16	25,8
	Mista	7	9,7	28	7,9	13	21,3	3	4,8
PARASSITI REPERTATI	E. histolytica	—	—	4	1,1	2	3,3	7	11,3
	E. coli	9	12,5	51	14,4	20	32,8	15	24,2
	E. nana	12	16,7	61	17,2	40	65,6	20	32,3
	I. bütschlii	3	4,2	2	0,6	2	3,3	2	3,2
	G. intestinalis	9	12,5	31	8,7	6	9,8	12	19,4
	C. mesnili	—	—	1	0,3	—	—	—	—
	A. lumbricoides	3	4,2	9	2,5	2	3,3	—	—
	E. vermicularis (1)	15	26,4	58	16,3	15	24,6	6	9,7
	T. trichiura	—	—	9	2,5	—	—	—	—
	H. nana	—	—	—	—	1	1,6	—	—
	T. saginata	—	—	1	0,3	1	1,6	—	—

(1) Vedi nota tab. 1.

Anche le infezioni da *E. nana* e da *G. intestinalis* non sono da trascurare giacchè in non pochi casi si sono riscontrati disturbi a carico dell'apparato digerente, che hanno ceduto solo a seguito di cure appropriate dirette alla eliminazione del parassita.

Il fenomeno delle parassitosi intestinali merita quindi una maggiore attenzione da parte sia del medico pratico che dell'epidemiologo ed è necessario che sempre più attiva e vigilante sia l'opera di prevenzione svolta da parte delle organizzazioni sanitarie in genere.

THE INCIDENCE OF INTESTINAL PARASITISM IN A GROUP OF STUDENTS OF THE PISA UNIVERSITY.

Research performed on the incidence of intestinal parasitism in a group of 550 students of the University of Pisa showed that 52.2% of those examined were parasitised. The incidence of infection with protozoan was 40.9% and that with helminths 20.8%. Mixed parasitosis by protozoan and helminths was present in 9.3% of the subjects.

Infection with *Entamoeba histolytica* was more frequent amongst students from southern Italy (3.3%) than amongst those from central Italy (1.1%) or northern Italy (0,0%). The incidence of this parasite amongst foreign students, mainly of Greek nationality, was 11.3%.

Infections with *Endolimax nana* (24.2%) and *Giardia intestinalis* (10.5%) were also present with marked frequency and these can sometimes be the cause of more or less marked disturbances.

Attention is drawn to the utility of the preventive medicine measures developed in this field by the organisation of the University of Pisa.

BIBLIOGRAFIA

Agostinucci G. (1955): Contributo alla conoscenza della diffusione delle parassitosi intestinali nella città di Roma. *Riv. Parass., XVI*, 271.

Buonomini G., Ricciardi M. L. e Carli G. (1956): Su una utile modificazione del metodo di Ritchie nella diagnosi delle parassitosi intestinali. *Igiene Moderna. XI-XII*, 971.

Carli G. e Casarosa A. (1958): Indagini sulla incidenza delle parassitosi intestinali tra gli abitanti di alcune zone agricole del Comune di Cascina. *Igiene San. Pubbl., IX-X*, 475.

Carli G., Saggese S. e Strazzullo B. (1957): Indagine sulla diffusione delle parassitosi intestinali in alcune zone del Molise. *Difesa Soc. 36*, 23-35.

Chieffi G. e Basso M. (1951): Indagini sulla diffusione delle parassitosi intestinali; osservazioni in una collettività militare. *Acta Med. Italica, VI*, 344.

Lombardo G. (1953): Sulla frequenza delle parassitosi elmintiche nell'uomo adulto siciliano. *Nuovi Ann. Ig. e Micr., V*, 373.

Lombardo G. (1954): Rilievi sulle parassitosi elmintiche in Sicilia. *Giorn. Malattie Infett. e Parass., VI*, 516.

Pistoletti G. (1955): Indagine sulla Oxyuriasi nella Prov. di Pisa e sulla possibilità di una bonifica di massa. *Ann. Sanit. Pubbl., XVI*, 115.

Ricci M. (1952): Ricerche parassitologiche nell'isola d'Ischia. IV Note sul parassitismo intestinale nella popolazione adulta. *Riv. Parass., XI*, 85.

Romanzi C. A. (1945): Sul risultato di esami diretti a mettere in evidenza protozoi patogeni eseguiti su 2600 campioni di feci. *Ig. Moderna*. 48.

Zaffino e Raspa G. (1952): L'ossiurosi negli individui adulti. *Riv. Parass. XIII*, 307.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XX - N. 2 - Giugno 1959

ALCUNI DATI SULLA BIOLOGIA DI *MACROCHELES INSIGNITUS*, BERL. *(ACARINA, MESOSTIGMATA)*. (*)

A. Filipponi e A. Ilardi (**)

M. insignitus è stato segnalato per la prima volta in Italia ed è stato allevato con successo su sterco di cavallo e ova di mosche. La specie è risultata coprofila, predatrice, arrenotoca. Sulla base di dati sperimentali e di osservazioni in natura si danno inoltre informazioni circa la velocità di sviluppo, la longevità, l'attività riproduttiva nei due sessi, la fecondità e la diffusione della specie.

Introduzione

Macrocheles insignitus, Berl. 1918 è una delle più piccole specie del genere e, pare, anche una delle più rare. Descritta da Berlese (1918) su un unico esemplare femmina raccolto da Cl. Cordier a Longny, Orne, Francia, fu ridescritta recentemente da Evans e Browning (1956) su un altro esemplare femmina, proveniente da un « letto caldo » presso Austrey, Warwickshine, Inghilterra. Per quanto ci risulta non esistono altre segnalazioni di *M. insignitus*. Circa l'identità specifica tra il materiale descritto da Berlese (1918) e quello descritto dagli Autori inglesi non è lecito, in questo caso, sollevare dubbi.

Abbiamo ritrovata la stessa specie nell'Agro Pontino, riuscendo per primi ad effettuarne l'allevamento. Impegnati in altre ricerche, dopo aver condotto a termine un primo esperimento, dovemmo limitarci a mantenere, per mesi, la specie in allevamento di massa. Purtroppo, per cause del tutto estranee all'allevamento stesso, il ceppo fu perduto. Essendo riusciti vani, fino a questo momento, i successivi tentativi di ritrovare la specie, ci si è decisi a pubblicare, per intanto, i dati in nostro possesso, non esistendo nella letteratura alcuna notizia sulla biologia di questa specie.

(*) Il lavoro è stato eseguito presso il Centro di Studi per la Lotta contro gli Insetti Nocivi.
(**) *Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Parassitologia, Roma.*

Materiale e metodo

Il ceppo che fornì il materiale da noi utilizzato era stato fondato, un mese prima, con una ventina di femmine « filtrate » da un secchio di letame pecorino. Questo proveniva da un recinto all'aperto, dove per tutto l'anno sostavano una trentina di pecore. Il pastore copriva con abbondante strame il terreno, interno al recinto, e lasciava accumulare il letame, per un anno intero. Le prime femmine di *M. insignitus* furono repertate in giugno. Altre femmine furono trovate ivi stesso nel mese successivo. Nel settembre il letame fu asportato e utilizzato nei campi, e, sebbene si riaccumulasse in condizioni analoghe, *M. insignitus*, per tutto l'anno successivo, non fu più trovato né lì, né nelle zone vicine, né altrove.

Nell'allevamento di massa erano comparsi i maschi, sconosciuti per l'avanti e non ancora descritti. In conseguenza dei risultati ottenuti con altri Macrochelidi (Pereira e De Castro 1948; Filipponi e Cervone 1957; Filipponi e Seganti 1957; Filipponi e Ilardi 1958), si era voluto indagare, mediante il primo ed unico esperimento realizzato, circa l'eventuale esistenza di una riproduzione partenogenetica, cercando, inoltre, di ricavare contemporaneamente informazioni sulla inseminabilità delle femmine a varie età.

Singole deutoninfe prelevate dall'allevamento di massa, furono allevate in tubetti separati e controllate due volte al giorno. Si utilizzarono 20 femmine così ottenute e, quindi, sicuramente vergini, scelte a caso tra quelle schiuse nello stesso intervallo di 12 ore. L'impostazione dell'esperimento risulta dalla tabella 1. Le 20 femmine furono divise in 5 gruppi, ciascuno di 4 femmine. Le femmine del primo gruppo, al 1° giorno di vita, furono confinate, per 24 ore, ciascuna insieme a due maschi vergini, mutati uno o due giorni prima. Non potendosi controllare l'accoppiamento si erano in tal modo esposte le femmine ad eguale probabilità d'accoppiamento e, quindi, di inseminazione. Le femmine del 2°, 3° e 4° gruppo furono confinate ciascuna con due maschi, anch'essi vergini e mutati da non più di 48 ore, rispettivamente al loro 4°, 7°, 10° giorno dall'ultima muta, parimenti, per la durata di 24 ore. Le femmine dell'ultimo gruppo non videro affatto maschi, restando così vergini per tutta la vita.

Le femmine furono allevate, in vasetti di 200 cc., con sterco di cavallo ed ova di mosche, seguendo una metodica già altrove descritta (Filipponi 1955; Filipponi e Cervone 1957). Dal primo giorno dopo l'ultima muta fino alla morte, esse vennero passate ogni 24 ore in una nuova serie di vasetti; ed i figli nati dalle ova deposte in ogni intervallo vennero contati, allo stadio adulto, quattro giorni dopo. Gli allevamenti furono condotti in termostato a 27°C e 100% circa di U.R.. La diagnosi del sesso può farsi con estrema sicurezza, per lo spiccato dimorfismo sessuale, comune del resto a tutti i Macrochelidi di cui ci siano finora noti i due sessi.

Analisi dei risultati sperimentali

I dati più importanti ed i risultati della loro elaborazione statistica sono riportati nelle 4 tabelle che seguono il cui significato risulta, in parte, chiarito dalle rispettive didascalie. Sono state però impiegate, nelle didascalie e nel testo, alcune brachilogie che necessitano di qualche dilucidazione, perchè non appaiano locuzioni imprecise. Le 16 femmine confinate con due maschi e così esposte al rischio dell'accoppiamento, secondo quanto è stato sopra spiegato, sono dette semplicemente « accoppiate »; e « non-accoppiate » le altre. Per periodo « prima dell'accoppiamento » si intende il periodo che precede il giorno in cui le femmine furono poste in presenza di due maschi; il periodo « dopo l'accoppiamento » va dall'inizio di tale giorno alla morte della femmina. Sono dette femmine « fecondate » le 11 femmine che deposero ova fecondate, assumendo come tali, nell'ipotesi di aplodiploidia, le ova che diedero origine a femmine; « non-fecondate » le altre. Altre precisazioni saranno fatte nel

Tabella 1.

Prole ottenuta da femmine di M. insignitus *prima e dopo l'accoppiamento, reso possibile a differenti età delle madri. Fuori parentesi il totale della prole, entro parentesi il numero delle figlie.*

N. d'ordine gruppi	Femmine accoppiate nel giorno	Prole prima e dopo l'accoppiamento	Replicazioni 1	Replicazioni 2	Replicazioni 3	Replicazioni 4	Totale prole dopo l'accoppiamento	Probabilità d'inseminazione
(1)	1°	dopo	12 (11)	31 (16)	19 (6)	5 (0)	67 (33)	0,4925
(2)	4°	prima dopo	0 (0) 23 (17)	0 (0) 25 (16)	1 (0) 28 (18)	0 (0) 25 (18)	101 (69)	0,6832
(3)	7°	prima dopo	12 (0) 15 (8)	9 (0) 12 (10)	3 (0) 16 (10)	10 (0) 4 (0)	47 (28)	0,5957
(4)	10°	prima dopo	5 (0) 5 (3)	16 (0) 5 (0)	11 (0) 1 (0)	16 (0) 8 (0)	19 (3)	0,1579
(5)	mai	—	23 (0)	19 (0)	19 (0)	36 (0)		

Test di omogeneità per le probabilità di inseminazione:

chi quadrato: 20,18 P $<$ 0,01
confronto tra i gruppi (1) e (2): chi quadrato 5,36 P = 0,02
» » » (2) e (3): » » 0,73 P = 0,35
» » » (3) e (4): » » 8,73 P $<$ 0,01

corso della discussione. Le singole femmine dell'esperimento saranno richiamate nel testo con un numero a due cifre di cui la prima si riferisce al gruppo, la seconda alla replicazione.

Cerchiamo ora di trarre dai nostri dati tutte le informazioni possibili, raggruppando la discussione per argomenti.

Arrenotochia. — Come appare dalla tabella 1, la presenza dei maschi non è affatto indispensabile né alla deposizione, né allo sviluppo delle ova. Le femmine « non-accoppiate » hanno tutte figli e parimenti si comportano la maggior parte delle altre prima dell'« accoppiamento ». Si sono ottenuti, in totale, 180 figli senza padre, tutti di sesso maschile. Le femmine nella prole compaiono solo dopo che l'inseminazione fu resa possibile e sono, quindi, da presumersi biparentali.

Delle 16 femmine « accoppiate » ben 11 danno prole femminile per un totale di 133 femmine su 234 figli complessivamente nati « dopo l'accoppiamento ». Non meno indicativi, a questo riguardo risultano i confronti statistici sulla fecondità tra femmine « accoppiate » e « non-accoppiate » e tra fem-

TABELLA 2.

Distribuzione dei figli e delle figlie, ottenuti dalle ova deposte giornalmente dalle femmine accoppiate al 4° giorno di vita.

Numero della femmina	Sesso dei figli	Giorni													
		3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	15°	16°
21	♂	—	2	3	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
	♀	—	—	5	3	5	3	—	1	—	—	—	—	—	—
22	♂	—	—	2	1	—	—	—	—	1	1	1	2	—	1
	♀	—	—	6	1	1	7	1	—	—	—	—	—	—	—
23	♂	1	6	2	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	♀	—	—	2	—	9	4	3	—	—	—	—	—	—	—
24	♂	—	2	—	—	—	—	—	2	—	—	—	1	1	1
	♀	—	—	5	4	7	2	—	—	—	—	—	—	—	—

mine « fecondate » e « non-fecondate » risultanti nella tabella 4. Come è da attendersi nel caso si verifichi la legge di DZIERZON, le differenze non sono significative. Né è da invocare un qualche effetto compensatorio, dovuto alla variabilità nella longevità delle femmine dei quattro gruppi, le cui differenze (vedi tabella 3) risultano anch'esse non significative. Una ulteriore convalida può trarsi infine dalla tabella 2, dove sono riprodotti per le femmine 21, 22, 23, 24 i conteggi di femmine e maschi nati da ogni deposizione giornaliera. Solo al 4° giorno le 4 femmine poterono ricevere spermi: all'indomani inizia l'ondata delle figlie e solo qualche ovo sfugge alla fecondazione. Esaurita la riserva di spermi ricompaiono nella progenie solo maschi, come avveniva «prima dell'accoppiamento». In definitiva, tutte le evidenze risultanti dagli esperimenti di incrocio sono in accordo con la legge di DZIERZON, né si vede quale altra giustificazione possa invocarsi, qualora non si ammetta che *M. insignitus* è specie arrenotoca.

Velocità di sviluppo e longevità. — Non si posseggono dati precisi circa la velocità di sviluppo, ma, per la temperatura di 27° C e a 100% di U.R. è possibile definirne i limiti. Nelle prove preliminari, condotte per decidere dopo quanti giorni conveniva controllare i figli adulti, si constatò che le ova deposte nel giorno n-esimo non avevano oltrepassato lo stadio di deutoninfa allo scadere del giorno (n+2)-esimo, salvo qualche raro maschio, appena mutato. Alla fine del giorno (n+4)-esimo maschi e femmine erano già tutti mutati. Nel giorno (n+3)-esimo si avevano adulti e deutoninfe. Tenendo presente che le ova potevano essere state deposte in ogni istante del giorno n-esimo si può presumere che la durata dello sviluppo embrionale e preimaginale, insieme considerati, a 27°C e 100% U.R. è compresa tra un minimo di 72 ore ed un massimo di 120 ore, essendo i maschi più precoci delle femmine.

Le 20 femmine adulte (tabella 3) hanno avuta una longevità media di 19,80 giorni, con ampiezza di variazione di 9 - 33 giorni. L'intera loro vita, per quanto si è detto, si è svolta quindi, in media, in 23 - 24 giorni. La variabilità (C = 24,09) può ritenersi piuttosto bassa, trattandosi di longevità, e rivela l'estrema omogeneità del materiale impiegato. E' verisimile anche che le condizioni di allevamento realizzate non siano molto lontane da quelle ottimali: tutte le femmine infatti hanno prole, compresa la meno longeva, nè ci sono, come di solito avviene in altre specie del gruppo, femmine morte nei primissimi giorni.

I maschi sono sicuramente meno longevi delle femmine, ma non si hanno su di essi maggiori informazioni. E' certo tuttavia che essi non muoiono dopo l'accoppiamento (VITZTHUM 1943). I maschi utilizzati per l'inseminazione delle femmine in esperimento furono trovati tutti vivi il giorno successivo, né v'è dubbio che tra essi vi fossero quelli che avevano certamente inseminato.

Ovoposizione e vitalità degli spermi. — Le femmine iniziano l'ovoposizione non molto tempo dopo l'ultima muta. La pre-ovoposizione (tabella 3) dura in media 1,50 giorni, con ampiezza di variazione di 0-4. Forse la durata minima non è molto inferiore alla unità di misura impiegata, è cioè, 24 ore. Anzi,

TABELLA 3.

Longevità in giorni di 20 femmine adulte di M. insignitus *e durata dei vari periodi dell'attività riproduttiva.*

	Minimo	Massimo	Media	Deviazione standard	Coefficiente variazione
Preovoposizione .	0	4	1,50	1,39	92,67
Ovoposizione . .	6	16	11,55	2,70	23,38
Postovoposizione .	1	24	6,75	4,94	73,19
Totale longevità .	9	33	19,80	4,77	24,09

Confronto longevità totale tra femmine accoppiate e non accoppiate
$t = 0,4361$ $P > 0,50$
Confronto longevità totale tra femmine fecondate e non fecondate
$t = 0,1086$ $P > 0,50$

tenendo presente che all'inizio dell'esperimento le femmine potevano già essere mutate da poco meno di 12 ore, è anche possibile che l'ovoposizione inizi in realtà non prima della fine del primo giorno per cui i valori indicati debbono ritenersi approssimati per difetto. L'ovoposizione ha la durata media di 11,55 giorni, con ampiezza di variazione di 6-16 e un coefficiente di variabilità percentuale più basso di tutti gli altri periodi. Segue infine un periodo post-riproduttivo, o post-ovoposizione, con 6,75 giorni di media, ampiezza di variazione di 1-24 e variabilità percentuale intermedia tra gli altri due.

Le ova vengono deposte singolarmente. Il modello di ovoposizione, presente in questa specie, potrebbe dedursi già dai dati analitici della tabella 2, relativi a sole 4 specie; ma per maggior evidenza, si è voluto riprodurre la fig. 1 che dà i figli per femmina in ogni intervallo di deposizione di 48 ore, ottenuti cumulando i dati di tutte le 20 famiglie dell'esperimento. Le deposizioni giornaliere quali risultano dai protocolli di esperimento sono state fuse a due a due, per rendere più regolare la distribuzione. L'ovoposizione inizia sostenuta, aumentando di poco nel 2° intervallo; ha un incremento rapidissimo nei due successivi, con un massimo al 4° intervallo (7° e 8° giorno), dopo il quale repentinamente decresce. Al 10° intervallo tutte le madri sono già entrate nel periodo post-riproduttivo.

Le femmine compaiono nella prole con un certo ritardo dalla inseminazione della madre. In nessun caso si sono avute femmine dalle ova deposte nel giorno dell'accoppiamento. Il ritardo va da un minimo di un giorno ad un massimo di tre giorni indipendentemente dalla disponibilità o meno delle ova. Il che avvalora la supposizione che gli spermi siano inguainati nella spermatofora non tutti allo stesso stadio di maturazione. L'intervallo tra l'inseminazione e la comparsa dell'ultima femmina va da un minimo di 2 giorni

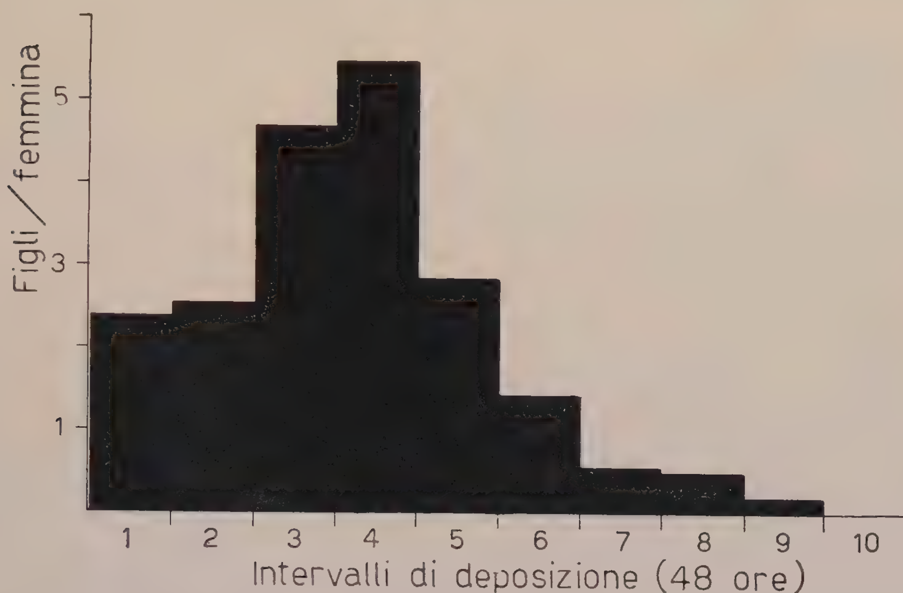


Fig. 1. — Figli per femmina nei successivi intervalli di deposizione (48 ore). Sono stati cumulati i dati di 20 progenie.

ad un massimo di 12 giorni. La vitalità degli spermi in questa specie deve, quindi, protrarsi almeno per un tale periodo. Esiste una tendenza ad un immediato impiego degli spermi disponibili (vedi tabella 2). Il destino di ciascun ovo, relativamente alla zigogenesi o alla partenogenesi è dunque verosimilmente deciso soltanto dalla presenza o meno di spermi maturi al momento della propria maturazione (FILIPPONI 1955). Un esame della tabella 2 convince facilmente come non troverebbe giustificazione la supposizione di un qualunque altro meccanismo di regolazione.

Inseminabilità delle femmine. — Dalla tabella 1 risulta che da ciascuno dei primi 4 gruppi di femmine si sono ottenute figlie. Questo prova, ovviamente, che in *M. insignitus,* l'inseminazione è possibile dal 1° giorno dopo l'ultima muta, fino, almeno, al 10° giorno, e cioè, praticamente fin verso la fine dell'ovoposizione; ma è essa ugualmente probabile? Il quesito era impli-

cito nella programmazione stessa dell'esperimento eseguito; ma essendo la specie risultata arrenotoca il problema si fa più complesso. Per avere una qualche indicazione al riguardo, nella colonna 8ª della tabella 1 sono stati cumulati, per ogni gruppo di femmine, i dati relativi alle figlie ed all'intera prole ottenuta « dopo l'accoppiamento »; e, nella colonna successiva, sono indicati i rapporti tra questi due valori. Il significato di questo rapporto (femmine/totale prole dopo accoppiamento) non è affatto ovvio *a priori* e va chiarito in base al complesso di tutti i dati deducibili dall'esperimento.

La comparsa di una femmina adulta in una specie arrenotoca è subordinata a tutta una serie di eventi a catena, e cioè, (1) l'accoppiamento, (2) l'inseminazione, (3) la fecondazione, (4) la fertilità dell'ovo fecondato, (5) la sopravvivenza nello sviluppo preimaginale. I due ultimi eventi determinano la differenza tra le ova realmente deposte e gli adulti da noi effettivamente contati. Purtroppo non possediamo una misura di tale differenza; ma se i confronti statistici sulla fecondità (tabella 4) tra femmine con prole mista

TABELLA 4.

Fecondità (computata sui figli adulti ottenuti) di 20 femmine di M. insignitus *a 27° e 100% U.R.*

Num.	Gruppi	N.	Minimo	Massimo	Media	Deviazione Standard	Coefficiente variabilità
(1)	**Fem. accoppiate** .	16	5	31	19,81	7,38	37,25
(2)	**Fem. non acc.** .	4	19	36	24,25	8,06	33,24
(3)	**Fem. fecondate** .	11	12	31	21.91	6,61	30,17
(4)	**Fem. non fec.** .	9	5	36	19,22	8,68	45,16
(5)	**Totale femmine** .	20	5	36	20,7	7,52	36,33

Confronto tra (1) e (2): $t = 1,05$ $P > 0,3$

Confronto tra (3) e (4): $t = 0,79$ $P > 0,5$

e femmine con soli maschi non mettono in evidenza differenze significative, è altamente probabile che il tasso di mortalità complessivo sia stato pressoché identico nei due sessi, per cui il rapporto da noi calcolato si identifica presumibilmente con quello che avremmo ottenuto rapportando il numero delle ova fecondate al totale delle ova deposte. Per quanto riguarda il terzo degli eventi sopra ricordati, la fecondità, sappiamo anzitutto che gli spermi hanno una vitalità di almeno 12 giorni, tale quindi da coprire praticamente l'intera ovoposizione, come è avvenuto di fatto per la femmina 11. Inoltre non esiste

alcun indizio che le ultime ova siano meno fecondabili delle prime; nella progenie delle femmine 11, 23, 31, 33, 41, sono proprio le femmine a chiudere la serie dei figli. Il nostro rapporto può essere quindi assunto anche come un rapporto tra le ova fecondate e quelle esposte al rischio di fecondazione. Se questo rapporto ha valori diversi nei quattro gruppi di femmine, ciò può essere legittimamente attribuito alla diversa quantità di spermi complessivamente ricevuti dalle femmine di ciascun gruppo. In altri termini, i valori dei nostri rapporti misurano in definitiva la frequenza e l'intensità con cui accoppiamento e inseminazione, i primi due eventi della catena, si sono effettuati nell'ambito dell'esperimento. Ricordando che i maschi confinati con le femmine dei quattro gruppi erano equivalenti per età e condizioni, diventa giustificato, con un'ultima approssimazione, assumere il rapporto in questione come indice della probabilità di inseminazione delle femmine alle varie età.

I confronti statistici sono riportati in calce alla tabella 1. I valori del rapporto per i quattro gruppi sono da considerarsi eterogenei. La « probabilità di inseminazione » aumenta dal 1° al 4° giorno, si mantiene egualmente elevata fino al 7° giorno, rapidamente declina al 10° giorno. L'interesse di tale comportamento potrà risultare forse quando sarà possibile compararlo con quello di specie affini. Risulta, ad es., strano per quanto si poteva sospettare avvenisse in altre specie (Filipponi e Seganti 1957) che i valori massimi non si abbiano all'inizio. Più ovvio appare invece il declino verso la fine dell'ovoposizione, sia che dipenda dalla femmina che ammetta con difficoltà il maschio, sia che dipenda dal maschio che si senta meno attratto da una femmina senescente. Le variazioni della « probabilità di inseminazione » ripetono in sostanza l'andamento delle variazioni dei figli per femmina per intervallo della fig. 1. Riteniamo troppo scarse le replicazioni effettuate per garantire che il comportamento constatato in questo esperimento possa incondizionatamente estendersi a tutta la specie.

Fecondità e diffusione della specie. — I dati sulla fecondità (tabella 4) sono derivati, come s'è detto, dal conteggio dei figli che raggiunsero lo stadio adulto. Si tratta, quindi, in effetti, di una fecondità, già corretta della mortalità embrionale e pre-imaginale. Per le 20 femmine si ha un valore medio di 20,7, con ampiezza di variazione di 5-36. Il numero di figli per femmina per giorno, ottenuto rapportando il totale dei figli al totale dei giorni complessivamente vissuti da tutte le femmine, è pari a 1,04, valore questo indubbiamente piuttosto cospicuo. Ricordando inoltre che la durata dello sviluppo pre-imaginale a 27°C non supera 4 giorni e che dal primo giorno dopo la muta una femmina può iniziare a deporre, ci si rende conto come la scarsa diffusione della specie non sia in rapporto al suo potenziale riproduttivo.

E' interessante a questo proposito istituire un confronto con altre tre specie dello stesso gruppo, *M. confusus*, Foà, *M. marginatus*, Berl., *M. vaga-*

bundus, Berl., che furono anche repertate nella stessa stazione, associate a *M. insignitus* e di cui possediamo i dati che ci occorrono (FILIPPONI e ILARDI 1958). I figli per femmina per giorno raggiungono in queste tre specie, nell'ordine, i seguenti valori, 1,42; 0,46; 0,32. *M. insignitus* si inserisce, quindi, tra essi al secondo posto, a poca distanza da *M. confusus*. Orbene come è stato riferito nello studio ora citato su 20 campioni di sterco di varia natura, prelevati nell'Agro Pontino da stazioni diverse in stagioni diverse, *M. confusus* è presente 16 volte, *M. marginatus* 13, *M. vagabundus* 7. Per contro su oltre 200 campioni, finora complessivamente filtrati, provenienti da coprotopi e terricci i più disparati della stessa regione, *M. insignitus* è presente solo due volte, sempre dalla stessa stazione. Dunque contrariamente a quanto sarebbe da attendersi dal suo potenziale riproduttivo, *M. insignitus* risulta effettivamente una specie scarsamente diffusa, come facevano sospettare i pochi reperti finora segnalati. E' probabile che la spiegazione risieda nel comportamento foretico, in genere largamente diffuso in queste specie coprofile, e che potrebbe essersi stabilito nelle diverse specie in grado diverso e con diversa specializzazione; ma non possediamo alcuna informazione al riguardo e la supposizione resta per ora solo una ipotesi di lavoro.

CONCLUSIONI

M insignitus fu raccolto su sterco pecorino; fu allevato su sterco di cavallo con ova di mosche; fu mantenuto in allevamento di massa su tale terreno per alcuni mesi: non è dunque arbitrario annoverare questa specie tra i Macrochelidi fimicoli e predatori.

I maschi, per l'innanzi sconosciuti, esistono e si sviluppano da ova non fecondate, essendo la specie arrenotoca. Su 7 specie di Macrochelidi finora complessivamente studiate (PEREIRA e DE CASTRO 1948; FILIPPONI 1955; FILIPPONI e CERVONE 1957; FILIPPONI e SEGANTI 1957; FILIPPONI e ILARDI 1958) 7 sono risultate arrenotoche. E' da presumere che l'arrenotochia sia caratteristica dell'intera famiglia, o ne rappresenti, in ogni caso, il metodo di riproduzione più generalizzato a 27°C e 100% di U.R., l'intero periodo di sviluppo si svolge tra un minimo di 70 e un massimo di 120 ore, essendo i maschi più precoci delle femmine. La longevità media delle 20 femmine adulte allevate è stata di 19,80 giorni, con ampiezza di variazione di 9-33 giorni. L'intera vita per le femmine ha la durata media di 24 giorni. I maschi sono meno longevi delle femmine, ma non muoiono dopo il primo accoppiamento.

L'ovoposizione inizia dopo un breve periodo, pre-ovoposizione, di 1,50 giorni medi, dura in media 11,55 giorni ed è seguita da un terzo periodo, post-ovoposizione, con 6,57 giorni di media. Il modello di ovoposizione è del tipo a concentrazione piuttosto iniziale, con successivo rapido declino. Pare che gli spermi possano essere iniettati in stadi diversi di maturazione e sono sicura-

mente ancora vitali dopo 12 giorni dall'inseminazione. Per ogni ovo la partenogesi o la zigogenesi è solo decisa dalla assenza o, rispettivamente, dalla presenza di spermi maturi al momento della propria maturazione.

Le femmine sono inseminabili dal 1° giorno dopo l'ultima muta, fino almeno al 10° compreso; ma la probabilità dell'inseminazione varia con l'età della femmina, raggiungendo i valori più elevati tra il 4° e il 7° giorno.

La fecondità media è di 20,7 figli, con ampiezza di variazione di 5-36. I figli per femmina per giorno raggiungono il valore di 1,04 che associato ad una brevissima durata di sviluppo e ad un rapido inizio di ovoposizione assicurano alla specie un potenziale riproduttivo non trascurabile. Ciò non ostante la specie è rarissima. Il confronto con altre specie affini per le quali si posseggono dati sulla fecondità e sulla diffusione conferma che *M. insignitus* è una specie troppo scarsamente diffusa in rapporto al proprio potenziale riproduttivo. Si suppone che il fenomeno possa essere legato ad un minore sviluppo del comportamento foretico nei confronti con altri Macrochelidi fimicoli. E' indubbio, in ogni caso, che la foresi giochi un ruolo di prima importanza nella diffusione di questi acari fimicoli.

Ringraziamenti. — Gli Autori ringraziano i Dirigenti ed il Personale del Comitato Provinciale Antimalarico di Latina per la cortese collaborazione offerta loro nella raccolta, trasporto e filtraggio del materiale utilizzato.

SOME DATA ON THE BIOLOGY OF *MACROCHELES INSIGNITUS*, BERL. (*ACARINA, MESOSTIGMATA*).

M. insignitus Berl. is first recorded from Italy. Females of this macrochelid mite were collected on sheep dung in the « Agro Pontino », near Latina, and reared successfully on flies' eggs and horse dung. It is a coprocolous and predatory species.

The breeding experiments have shown that males, unknown before, do occur in this species and develop from unfertilized eggs. Unmated females have produced all-male progenies, female offspring being biparental. Moreover, in agreement with Dzierzon's law, the numerical difference between offspring of unmated and mated females (the first monogenic, the later mixed) was not significant. The 7 macrochelid species up to now investigated have all shown to be arrhenotokous. Arrhenotoky is consequently to be considered a widely spread method of reproduction in the *Macrochelidae*.

The length of the complete developmental cycle (egg laid to adult emerged), at 27°C. and 100% R.H. ranged from 72 to 120 hours, males developing faster than females. In the above conditions, the mean length of adult life for 20 females was 19.80 days, range 9-33; and the average lengths of various periods, i.e., preoviposition, oviposition, and postoviposition were respectively 1.50, 11.55, 6.57 days. Males do not live so long, but they do not die after the first mating.

Eggs are laid singly. The oviposition pattern (fig. 1) is of the type in which laying reaches an early maximum and falls off rapidly.

The sperms appeared to be more or less immature at the moment of insemination and remained viable for 12 days.

As in other macrochelid mites, occurrence of zygogenesis or parthenogenesis seems to depend only on the occurrence of coincidences between egg and injected sperm maturation.

Females were capable of being inseminated at the 1st, 4th, 7th and 10th day after their final moult; but the probability of insemination was not identical for females at different age, the greatest value having been reached by 4 and 7 days old females.

The mean number of offspring (eggs laid have not been inspected, the adults born from daily oviposition having been counted soon after their last moult) for the 20 females singly reared was 20.7, range 5-36; the offspring per day per female was 1.04.

M.i. seems too rare a species for its innate capacity of increase. Other macrochelid species having a lower reproductive and survival rate are more largely distributed. Since phoresy plays a very important role in the diffusion of coprocolous mites, the above unexpected findings suggest that phoretic behaviour may have been established to a different degree among the various spcies.

BIBLIOGRAFIA

Berlese A. (1918): « Centuria quarta di Acari nuovi ». *Redia, 13,* 115-192.

Evans G. O. e Browning E. (1956): « British mites of the subfamily *Macrochelinae* Trägardh (*Gamasina, Macrochelidae*) ». *Bull. Brit. Mus.* (*Nat. Hist.*) *Zool., 4,* 3-55.

Filipponi A. (1955): « Un nuovo caso di arrenotochia nei Macrochelidi (*Acarina, Mesostigmata*) ». *Riv. Parass., 16,* 145-168.

Filipponi A. e Cervone L. (1957): « Isolamento sessuale tra due specie di *Macrocheles,* foretiche e predatrici di *Musca domestica* ». *Riv. Parass., 18,* 17-26.

Filipponi A. e Ilardi A. (1958): « Sulla validità di tre specie del sottogenere berlesiano *Macrocheles* (*Acarina, Mesostigmata*) ». *Riv. Parass., 19,* 117-130.

Filipponi A. e Seganti L. (1957): « Arrenotochia in *Macrocheles subbadius* (*Acarina, Mesostigmata*) ». *Riv. Parass., 18,* 27-33.

Pereira C. e De Castro M. P. (1938): « Forese e partenogênese arrenótoda em *Macrocheles muscaedomesticae* (Scopoli) (*Acarina*: *Macrochelidae*) e sua significaçâo ecológica ». *Arq. Inst. Biol. S. Paulo, 18,* 71-89.

Vitzthum H. G. (1940-42): « *Acarina* ». Bronns' Klassen und Ordnungen des Tierreiches, 5 Band, 4 Abt., 5 Buch, 1-1011+XI, Leipzig 1943.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XX - N. 2 - Giugno 1959

DÉTERMINATION DE L'AGE PHYSIOLOGIQUE DES DIPTÈRES. NOUVELLE MÉTHODE BASÉE SUR LA RECHERCHE DES VESTIGES DU PROCESSUS DE L'OVULATION.

B. LEBIED (*)

Le présent travail a trait à une nouvelle méthode biologique, basée sur la recherche dans l'ovaire de l'insecte des vestiges des ovulations accomplies et permettant l'identification de l'âge phsysiologique de ces Diptères précisément, dont la structure ovarienne ne permet pas l'application des méthodes de MER (1932) et de POLOVODOVA (1951), inventées, toutes les deux, pour servir uniquement à la recherche de l'âge physiologique des Anophèles , vecteurs de la Malaria. L'auteur fait donc part de l'inconvénient pour l'épidémiologie de manquer d'une méthode permettant la détermination de l'âge physiologique des Diptères vecteurs des Filarioses, et parvient, en utilisant sa nouvelle mèthode de recherche, de résoudre des problèmes débattus depuis longtemps déjà dans l'épidémiologie d'Onchocercose et de Loasis concernant la longévité des vecteurs parasités ou non.

La détermination de l'âge physiologique d'une population de femelles de Diptères hématophages, vecteurs de maladies présente un vif intérêt pour l'épidémiologiste. Il y a longtemps, en effet, que l'on a constaté l'existence d'une corrélation dans les durées du cycle gonotrophique chez l'anophèle et du cycle sexué (ou sporogonie) du *Plasmodium*. Les méthodes existantes (MER, 1932; POLOVODOVA, 1941) de détermination de l'âge des populations femelles d'Anophèles ont grandement aidé les paludologues à mieux comprendre l'épidémiologie du paludisme et à juger de l'efficacité de la lutte antianophélienne.

Mais ces méthodes établies sur un détail de la structure ovarienne, existant d'ailleurs uniquement chez les Anophèles (la présence des ampoules aux oviductes pairs dont la mensuration et l'observation de l'aspect de ces organes sont les critères des méthodes évoquées) ne peuvent être utiles pour déterminer l'âge physiologique des autres Diptères hématophages (Nématocères

---

(*) *Entomologiste, Laboratoire du service d'Hygiène, Bukavu, Congo Belge.*

et Brachycères), vecteurs redoutables de maladies telles que l'onchocercose, la filariose de Bancroft et la loasis. Cependant, là également, tout comme chez l'Anophèle infesté par le *Plasmodium*, la femelle nullipare qui s'est gorgée de sang sur un porteur de filaires est apte à infester à son tour tout hôte humain nourricier qu'elle piquera après ponte (Wanson et Lebied, 1948). Nous pouvons aujord'hui fournir l'explication physiologique de cette corrélation entre la durée de ces deux cycles évolutifs: cycle gonotrophique chez l'insecte et cycle évolutif de la larve filarienne. En effet, la croissance et le développement de la larve filarienne en évolution intrasyncytiale (Lebied, 1950; Lebied, 1957) se font aux dèpens des mêmes matières de réserve (élaborées et emmagasinées par la cellule polynucléée où se développe la larve). Ces matières sont puisées dans le même torrent métabolique (déclenché par la digestion du sang et contrôlé par le tissu adipeux de l'insecte) que les matières servant à la maturation des ovaires chez l'hôte intermédiaire. Ainsi, la larve filarienne se développe aux dépens du glycogène et des corps albuminoïdes à l'exclusion des graisses (Lebied, 1957).

L'intérêt que l'on porte actuellement à l'onchocercose montre bien, pour l'épidémiologie de cette maladie, l'inconvénient de manquer d'une méthode permettant la détermination de l'âge physiologique de la population femelle des Simulies, vecteurs de ce fléau en Afrique et en Amérique centrale. Cet inconvénient trouve son expression dans deux hypothèses contradictoires: doit-on admettre l'existence d'oeufs hibernants chez *Similium damnosum* (Hughes, 1952) ou plutôt une longévité accrue chez l'imago à la saison séche quand le gîte larvaire des Simulies se dessèche (Lewis, 1953). Par ailleurs, les essais (Lewis, 1953; Crosskey, 1954) de détermination de l'âge physiologique d'après la présence ou l'absence d'écailles sur le thorax et l'abdomen (si l'on admet que les téguments peuvent indiquer l'âge physiologique de l'insecte), témoignent également d'une crise de l'épidémiologie de l'onchocercose (1). Il en allait de même pour l'épidémiologie du paludisme lors des essais de détermination de l'âge physiologique des anophèles d'après le degré de dénudations des écailles sur les ailes du vecteur. Les mêmes remarques s'appliquent également à la loasis (Symposium on loasis, 1955).

Fait curieux, malgré le nombre considérable de chercheurs (Nicholson, 1921; Nath, 1925; Christophers, Sinton et Covell, 1939; Mer, 1936; Polovodova, 1941) qui ont étudié la structure ovarienne et le processus de l'ovulation chez

---

(1) En se référant au rapport du Comité d'Experts de l'Onchocercose, tenu à Mexico en 1953 et dans lequel sont énumérés un grand nombre de problèmes dont la solution reste toujours à trouver, il est étonnant de noter que parmi ces problèmes restés en suspens il n'est même pas fait mention de celui que nous considérons comme étant des plus important dans l'épidémiologie, à savoir: une méthode permettant l'identification de l'âge physiologique des vecteurs.

les Diptères, la question primordiale des vestiges du processus de l'ovulation n'a pas été étudiée.

Dans un travail précédent (WANSON et LEBIED, 1948), nous avons tenté d'interpréter certains caractères de la structure de l'ovariole. Nous avons alors estimé, à tort, que *Simulium damnosum* peut être considéré comme une espèce de longévité réduite, n'accomplissant dans la nature que deux cycles gonotrophiques au cours de son existence. L'éventualité d'un troisième cycle go-

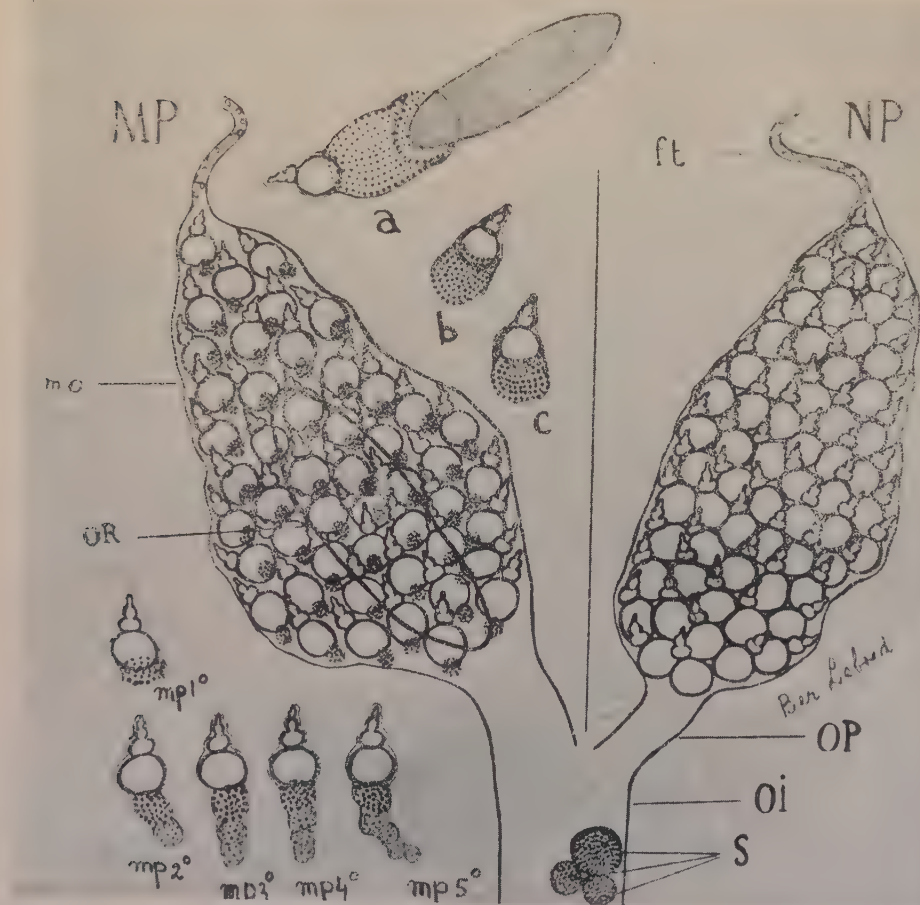


Fig. 1. — Schéma de l'ovaire de *Aëdes aegypti*. MP, glande ovarienne dans les conditions de multiparité; NP, glande ovarienne dans les conditions de nulliparité; OR, oeuf reliquat d'une ponte antérieure; mo, membrane de l'ovaire, ft, filament terminal de l'ovaire; op., oviducte pair; oi, oviducte impair ou vagin; s, trois spermathèques; a, b, c, ovariole et les vestiges de l'ovulation diminuant leur volume, mp1°, mp2°, mp3°, mp4° et mp5°, ovarioles au premier, deuxième, troisième, quatrième et cinquième degré de multiparité. Remarquer en MP les vestiges de l'ovulation à la base de chaque oocyte primaire et la situation espacée des ovarioles contrastant aver la situation des ovarioles dans NP ou ces derniers s'entretouchent.

notrophique n'est pas établie et ne s'appuie que sur la composition anatomique ternaire de l'ovariole. En effet, l'éventualité d'un troisième cycle gonotrophique n'est fondée que sur la composition ternaire de l'ovariole (soit trois follicules ou oocytes, primaire, secondaire et tertiaire) par quoi l'on admettrait la notion, à notre avis inadmissible en entomologie, de la fixité du nombre des oocytes dans l'ovaire de l'insecte. Or, l'ovariole se termine par le germarium, complexe de cellules indifférenciées et d'une puissance oocytogène infinie. En effet, quand au terme d'un cycle gonotrophique l'oocyte primaire devient oeuf et que ce dernier se débarrasse de l'épithélium folliculaire qui l'enveloppe et de la fine membrane commune enveloppant l'ovariole (processus de l'ovulation chez l'insecte), l'oocyte secondaire se transforme en oocyte primaire, l'oocyte tertiaire se transforme en oocyte secondaire, et une cellule

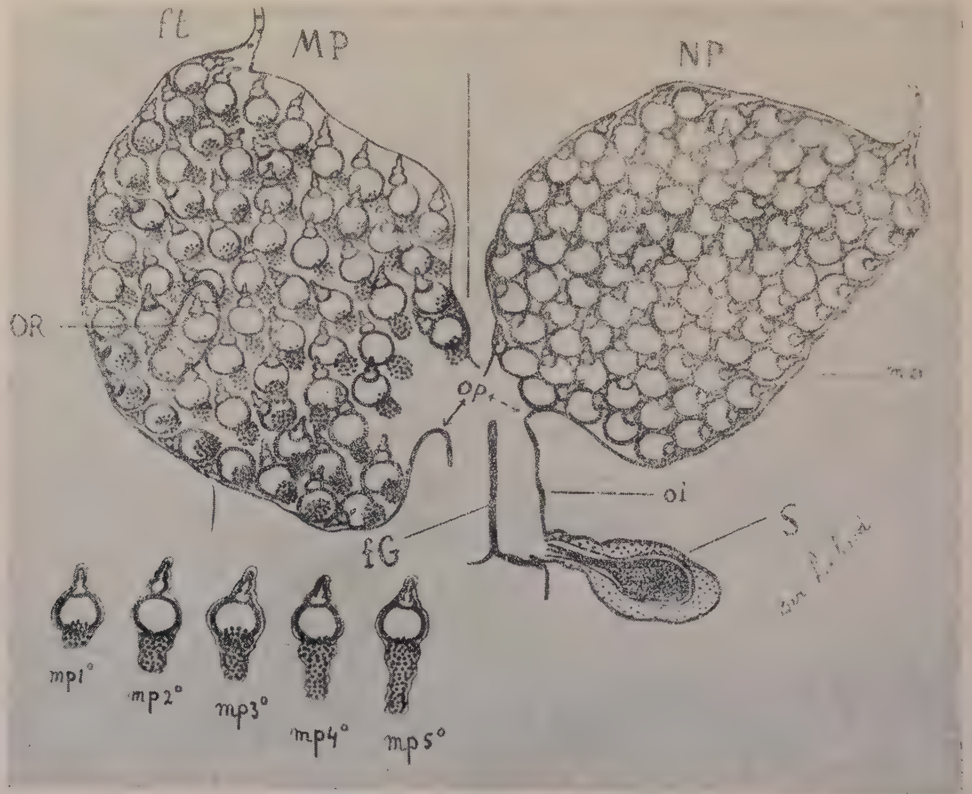


Fig. 2. — Schéma de l'ovaire de *Simulium damnosum*. NP, glande ovarienne dans les conditions de nulliparité; MP, glande ovarienne dans les conditions de multiparité; OR, oeuf reliquat d'une ponte antérieure; mo, membrane de l'ovaire; op, oviducte pair; oi, oviducte impair ou vagin; fg, fourchette génitale à branche gauche brisée; ft, filament terminal de l'ovaire; s, spermathèque; mp 1°, mp 2°, mp 3°, mp 4° et mp 5°, ovarioles au premier, deuxième, troisième, quatrième et cinquième degré de multiparité.

du germarium se différencie en oocyte tertiaire. Chez les Diptères hématophages, cette évolution se fait au rythme des repas sanguins successifs effectués par l'insecte.

Suite à la découverte (Lebied, 1957) des relations filarioénergidiques déterminants de l'achèvement ou de la suppression de l'évolution intrasyncytiale des *Filariata,* nous avons interprété les formes en « saucisse » chez le vecteur *capturé piquant,* comme étant non des « larves évolutives ou évoluantes »

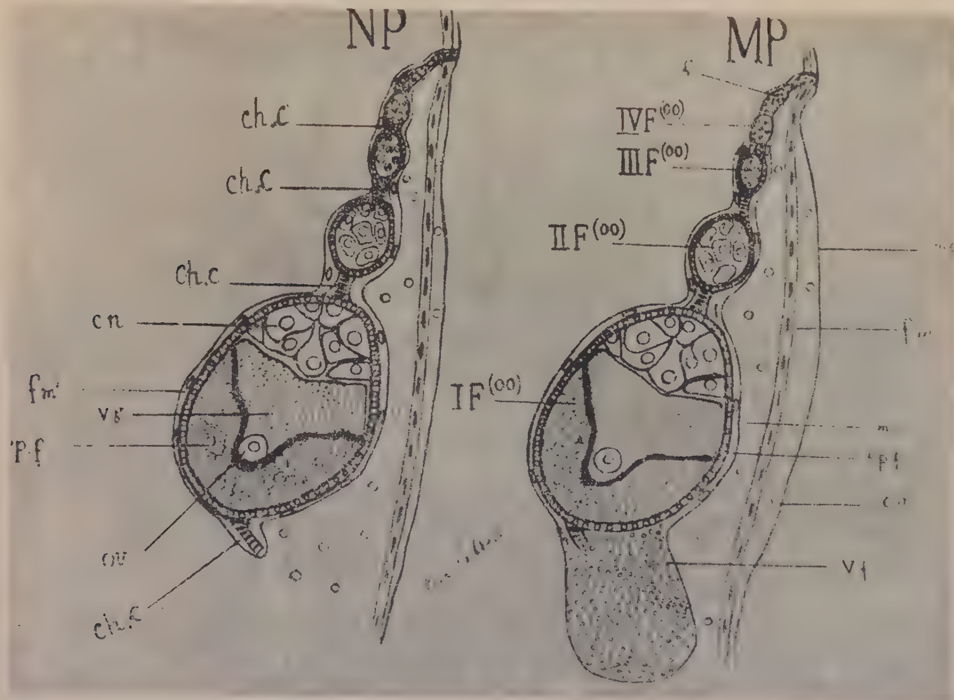


Fig. 3. — Schéma d'un ovariole de l'ovaire de Diptère chez une femelle nullipare (NP) et d'un ovariole chez une femelle multipare (MP). IF (OO), oocyte primaire; IIF (OO), oocyte secondaire, IIIF (OO), oocyte tertiaire; IVF (OO), oocyte quartenaire; g, germarium; moI, membrane de l'ovariole tapissée par des fibres musculaires (fmI) dont on voit les noyaux; ch, c, chaîne de cellules a la base de chaque oocyte enveloppée par la membrane de l'ovariole; ep. f, épithélium folliculaire; ov, ovule; cn, cellule nutritive; vg, granulations vitellines; mo, membrane de l'ovaire; fm, une fibre musculaire tapissant la membrane de l'ovaire; cm, noyau d'une cellule tapissant la membrane de l'ovaire; vf, vestiges de l'épithélium folliculaire d'un oeuf ovulé.

(Wanson, Henrard et Peel, 1945; Henrard, Peel et Wanson, 1946; Wanson, 1950), mais des larves d'une évolution abortive. La vérification de notre point de vue exigeait de déterminer exactement l'âge physiologique de l'insecte, puisque nous avions constaté que les formes en « saucisse » et infectantes se rencontrent uniquement chez les multipares (capturées en train de piquer). Mais



Fig. 4 — Ovaire de *Aëdes aegypti* multipare au 3me degré. Les ovarioles sont espacés l'un de l'autre. Remarquer également (en comparant cette photo avec celle de fig. 7) le « mouvement général » de l'évolution de l'ovariole vers le haut de l'ovaire (voir le texte). On voit la chaîne des vestiges de 3 ovulations successives. Gross. 58.

la classification en nullipares et multipares manquant de précision, il importait de déterminer avec exactitude le degré de multiparité. Car si l'infestation des Arthropodes par des microfilaires (Lebied, 1957) aboutit à la soustraction de matières de réserve nécessaires à l'organisme, ce parasitisme doit affecter également la longévité de l'hôte intermédiaire.

Nous avons donc poussé nos études vers la recherche des vestiges de l'ovulation chez l'insecte. La méthode comparative que nous avons adoptée permettra de se rendre compte que ce qui est valable pour l'ovaire de la femelle d'un Nématocère l'est également pour l'ovaire de la femelle d'un

Brachycère; l'ovariole de tout Diptère appartenant au même type polytrophique (*).

Dès 1943, au cours de nos dissections d'un nombre considèrables d'*Anophèles gambiae* et *A. funestus*, de *Culex fatigans* et *C. tigripes*, d'*Aëdes aegypti*, de *Simulium damnosum*, *Culicoides sp.*, de *Phlébotomus sp.*, de *Chrysops dimi-*



Fig. 5. — Fragment d'une glande ovarienne de *Chrysops* multipare au 5me degré. Une chaîne composée de 5 vestiges de 5 ovulation successives est bien visible à la base de la glande ovarienne. Les ovarioles sont espacés l'un de l'autre. Gross. 200.

(*) Pour la clarté de l'exposé et pour éviter de longues et fastidieuses descriptions de la structure ovarienne et du processus de l'ovulation chez les Diptères nous joignons à ce travail une iconographie en dessins et photos, représentant l'ovaire de Diptère dans les conditions de nulliparité et celles de multiparité, un fragment du processus de l'ovulation (Fig. 1, a) et les vestiges de ce processus (ce dernier fait intéressant l'épidémiologiste). Dans nos schémas représentant les ovaires d'*Aëdes aegypti* (fig. 1) et de *Simulim damnosum* (fig. 2) nous montrons,

diatus et *C. silaceus* nous avions constaté, dans les ovaires d'un certain nombre de Diptères dissiqués, la présence d'éléments d'aspect vestigial à la base de l'oocyte primaire et ceci dans chaque ovariole. Nous avions remarqué également que ces éléments sont constants dans tous les cas où l'ovaire présente un ou plusieurs oeufs, reliquats d'une ponte. Cette dernière constatation (véri-



Fig. 6. — Ovaire de *Simulium damnosum* multipare au 2me degré. Les ovarioles sont espacés l'un de l'autre. On voit à la base de la glande droite les vestiges de deux ovulations successives. Remarquer le « mouvement général » de l'évolution de l'ovariole vers le haut de l'ovaire (comparer ces conditions avec celles de l'ovaire sur la fig. 8). On voit un oeuf reliquat d'une ponte antérieure. Remarquer la fourchette génitale. Gross. 190.

fiée ensuite sur les Anophèles en appliquant les méthodes de Mer et Polovodova) nous a amené à conclure que nous nous trouvions devant les vestiges de l'ovulation. L'examen de ces éléments révèle, en effet, qu'il s'agit de l'épi-

---

de part et d'autre une glande dans les conditions de nulliparité (NP) et une glande dans celles de multiparité (MP). Pour mieux mettre en évidence les différences, nous avons dessiné dans chaque glande multipare un oeuf reliquat d'une ponte, fait qui a constitué jusqu'à ce jour le seul critère valable pour reconnaître un multipare chez les Simulies, Aëdes, Culex, Chrysops etc... Précisons ceci également, que dans nos dessins nous représentons les conditions de multiparité jusqu'au cinquième degré (mp 1°, mp 2°, mp 3°, mp 4°, mp 5°) un schéma (fig. 3) représente la structure d'un ovariole d'un ovaire d'une nullipare (NP) et d'un ovaire multipare (MP).

thélium folliculaire des oeufs ovulés retenu dans les plis de la partie basale de la membrane enveloppant l'ovariole. En outre, nous avons pu mettre on évidence un fait intéressant: il s'agit souvent des vestiges non d'une seule ovulation mais de plusieurs, ce qui confirme la présence dans un certain nombre d'ovaires d'une véritable chaîne de ces vestiges d'ovulation en forme de petits sacs partant de la base de chaque oocyte primaire. Nous avons pu également noter que les ovarioles dans l'ovaire des multipares sont espacés l'un de l'autre (Fig. 1, MP; 2, MP; 4; 5; 6) et que la distance qui les sépare est d'autant plus grande que la chaîne des vestiges d'ovulations successives est plus longue. Dans l'ovaire d'une nullipare, les ovarioles s'entretouchent presque (Fig. 1, NP; 2, NP; 7; 8).

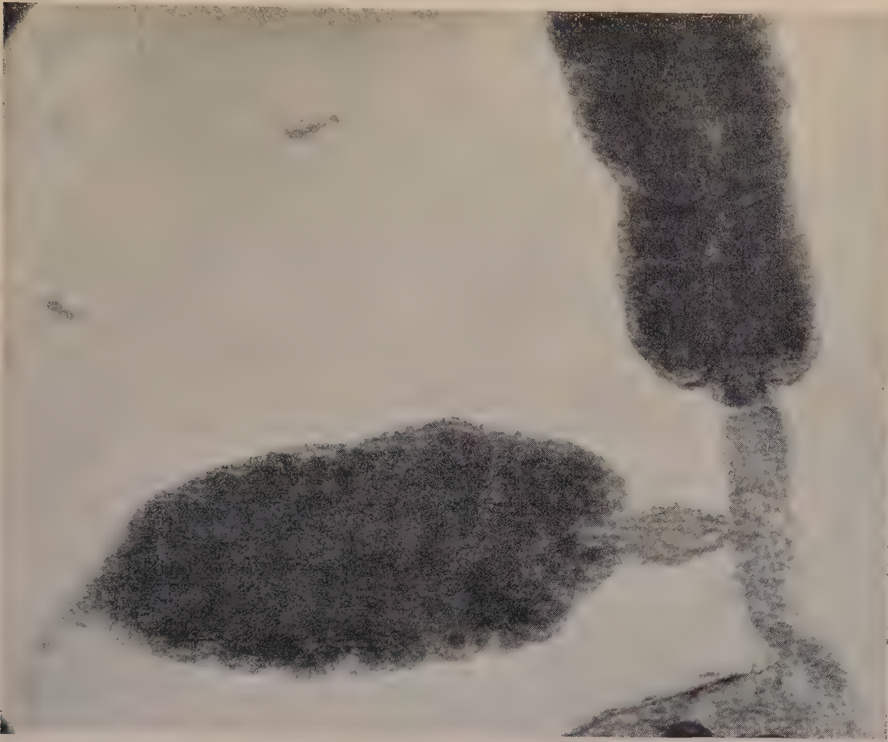


Fig. 7. — Ovaire de *Aëdes aegypti* nullipare. On voit que les ovarioles s'entretouchent. Remarquer également le fait que les premiers ovarioles se trouvent juste au-dessus des oviductes pairs. Gross. 190.

Fort de ces observations sur les Diptères de capture, montrant dans l'ovaire des multipares la persistance des vestiges de chaque ovulation, nous avons décidé de faire quelques observations de laboratoire. Des *Anophèles gambiae* et des *Aëdes aegypti* d'élevage (donc d'un âge physiologique connu) ont été systématiquement disséqués après chaque ponte à intervalles d'une heure à

huit jours. Ces observations ont confirmé nos observations antérieures; elles ont, en outre, révélé les faits nouveaux, suivants:

1. Les vestiges d'une ovulation sont, une heure après la ponte, presque aussi volumineux que l'épithélium folliculaire quand il enveloppe encore l'oeuf prêt à ovuler; peu après ces vestiges diminuent de volume (Fig. 1, MP, a, b, c,).

2. Bien que les vestiges de l'épithélium folliculaire soient voués à la dégénérescence, ils sont encore visibles huit jours après la ponte.

3. Il y a une gradation dans le volume des vestiges des ovulations successives (fig. 1 et 2, mp 1° à mp 5°; fig. 4 et 5). Dans le chaîne des vestiges, ceux de l'ovulation la plus ancienne ont la plus petite dimension. C'est également là que la dégénérescence de l'épithélium folliculaire de l'oeuf ovulé, est la plus prononcée.

4. Les vestiges de l'ovulation renferment parfois un pigment jaunâtre, suite à la dégénérescence de l'épitélium folliculaire de l'oeuf ovulé (*).

5. Dans l'enchaînement des transformations des oocytes, du stade tertiaire au stade secondaire, du secondaire au primaire (phénomènes résultant de chaque ovulation), l'oocyte devenu primaire ne se retrouve jamais dans la position occupée par le précédent devenu oeuf; ceci explique le « mouvement général » de l'évolution des ovarioles vers le haut de l'ovaire. Ce phénomène est surtour accentué à la base de la glande ovarienne (Fig. 1 MP et 2 MP; fig. 4 et 6) et est à comparer avec les images de l'ovaire d'une nullipare (Fig. 1 NP et 2 NP; fig. 7 et 8).

6. L'ovariole du Diptère n'est pas ternaire mais quaternaire (Fig. 3) ce fait est surtout visible lorsque l'oocyte primaire passe au cours du cycle gonotrophique aux stades IV et V.

7. Il existe une chaîne de cellules à la base de chaque oocyte, enveloppée par la membrane commune de l'ovariole (Fig. 3, ch. c.), ce fait est à retenir afin de ne pas la confondre avec les vestiges de l'ovulation d'autant plus que la membrane de l'ovariole est distendue à la base de l'oocyte primaire chez la nullipare.

Au cours de nos recherches sur la structure ovarienne des Diptères, nous avons également pu mettre en évidence la présence de fines fibres musculaires tapissant la membrane commune de l'ovariole (Fig. 3, fm 1). Cette observation peut expliquer le mécanisme de l'ovulation chez les Diptères. En effet, le phénomène des mouvements spécifiques de l'ovariole est bien connu. Or il

---

(*) Il est intéressant de noter que la présence d'un pigment jaunâtre dans l'ovaire d'Anophèles multipares a été signalé pour la première fois par un auteur soviétique (Polovodova, 1941) mais la signification du phénomène, c'est à dire que ce pigment se trouve en réalité dans les vestiges de l'épithélium de l'oeuf ovulé, lui a échappé

est bien compréhensible que s'il y a, dans la série des oocytes, un oocyte devenu oeuf (cet oeuf étant devenu tranchant à cause du durcissement de l'exochorion), la déchirure de l'épithélium folliculaire et de la membrane commune enveloppant l'ovariole est causée par les mouvements de l'ovariole. Dans le mécanisme de l'ovulation, le mouvement péristaltique de l'ovaire joue également un rôle. Ce dernier phénomène a pour cause les contractions des fibres musculaires tapissant la membrane enveloppant l'ovaire (Fig. 3, fm).

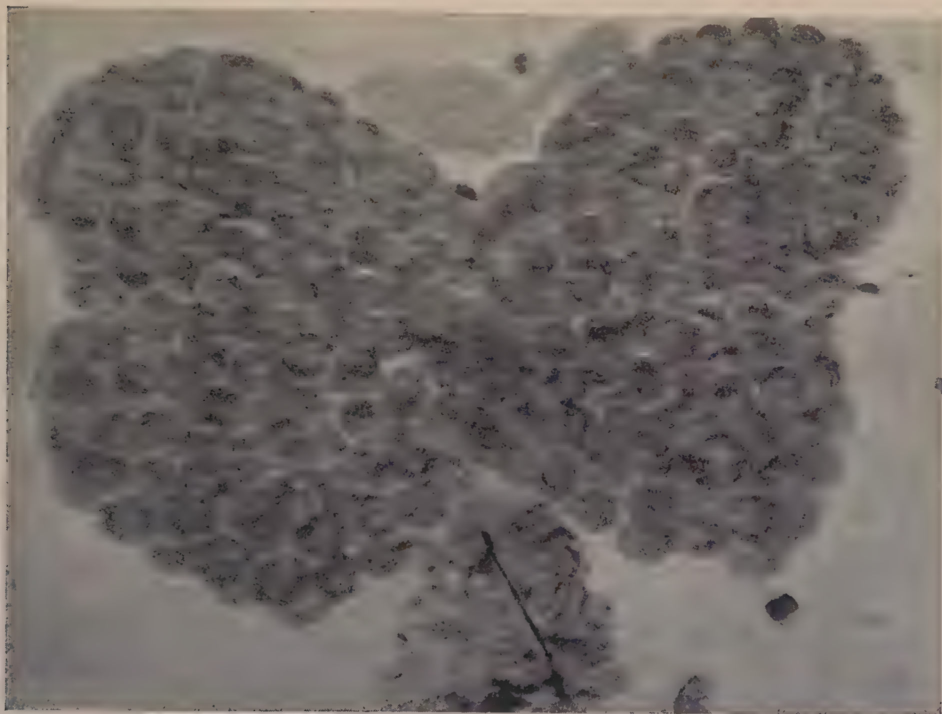


Fig. 8. — Ovaire de *Simulium damnosum* nullipare. Comparer cette photo avec celle de fig. 6. Remarquer la fourchette génitale. Gross. 190.

Précisons enfin que notre étude sur la structure ovarienne des Diptères est basée non seulement sur l'examen des ovaires frais, mais également sur des ovaires après fixation et coloration par le Carmin au borax alcoolique de Grenacher et par le Glychémalun de Carazzi. Il est à noter que les vestiges de l'ovulation ressortent avec une grande netteté dans les préparations des ovaires colorés.

A l'intention des chercheurs qui voudraient vérifier l'efficacité de la méthode proposée, nous ajoutons une observation importante: tant chez les nullipares que chez les multipares, il existe à la base de chaque oocyte une chaîne de cellules qu'il importe de ne pas confondre avec les vestiges de l'ovulation. De même, il est nécessaire d'examiner les ovaires à la base même

de ces organes, au point de leur jonction avec les oviducs pairs : à cet endroit, les vestiges de l'ovulation ne sont pas masqués par la densité des ovarioles. Notons également, que les recherches ont été faites avec les grossissements de 100 à 360 fois.

Résumons donc ici brièvement les constatations auxquelles nous sommes arrivés en appliquant nos nouvelles connaissances à l'étude de la longévité des populations de différents Diptères hématophages en saison des pluies. En dénombrant les vestiges des ovulations successives accomplies par les *Simulium damnosum* et en multipliant le chiffre obtenu par le nombre de jours nécessaires à l'accomplissement d'un cycle gonotrophique (compte tenu des conditions atmosphériques et des expériences de laboratoire) nous avons constaté chez l'insecte considéré (et *non infesté*) une longévité de 65 jours au minimum. Ce dernier fait corrobore les données de Dalmat (1955) sur la longévité des Simulies guatémaltèques (expériences faites sur des insectes colorés puis relâchés dans la nature). Nous avons constaté également que la longévité des *Culicides, Aëdes aegypti, Culex fatigans, Anopheles gambiae* et *Chrysops* (*silaceus* et *dimidiatus*) mesurée par la même méthode est analogue à celle de *Simulium damnosum* à la même époque de l'année.

Pour les *Simulium damnosum* infestés par *Onchocerca volvulus* ainsi que les *Chrysops silaceus* et *C. dimidiatus* infestés par *Loa loa* et capturés en train de piquer, nous avons pu constater qu'il s'agit toujours de multipares (*) et qu'il y a notamment un grand écart entre le parasitisme chez les multipares du 1er et du 2eme degré et l'apparition du parasitisme chez les vecteurs de multiparité supérieure. Nous pouvons en conclure que l'action parasitaire de la larve filarienne a un effet néfaste sur la longévité de l'hôte intermédiaire. D'autres faits, fournis en particulier par des expériences sur l'infestation d'Arthropodes par des microfilaires au laboratoire confirment la thèse de l'action létale des microfilaires chez les hôtes intermédiaires infestés. En effet, si ces hôtes intermédiaires s'infestent au laboratoire à 100%, ces mêmes insectes capturés en train de piquer, dans un foyer de filariose, montrent une infestation comparativement faible, ce qui confirme la thèse que leur longévité est fortement compromise par ce parasitisme dont nous connaissons aujourd'hui la nature et le mécanisme (Lebied, 1957). Tels sont les problèmes épidemiologiques que nos nouvelles recherches sur la possibilité de distinguer les nullipares et les multipares chez les Diptères, vecteurs des Filarioses, ont contribué à résoudre.

(*) Les nullipares (capturées en train de piquer) sont toujours négatives au point de vue parasitisme.

CONCLUSIONS

Il n'y a pas le moindre doute que la présente note, accompagnée d'une iconographie, est de nature à combler une lacune dans la littérature concernant l'épidémiologie des Filarioses transmises par des Diptères hématophages. Cette recherche concernant les vestiges de l'ovulation chez l'insecte constitue une méthode biologique qui au point de vue de sa précision, des possibilités étendues et des facilités d'application pour la détermination de l'âge physiologique des Diptères, dépasse en efficacité les méthodes actuellement connues et appliquées aux Anophèles (MER et POLOVODOVA). Notons qu'en application de cette méthode, des recherches sont en cours (GILLET et LEBIED) dans un foyer d'Onchocercose au Congo Belge (Vallée de la Ruzizi) afin de déterminer l'influence du parasitisme et l'influence de l'étiage des rivières abritant des gîtes à Simulies sur l'âge physiologique de la population du vecteur (*S. damnosum*).

Enfin, notons ceci également, que cette méthode de l'identification de l'âge physiologique des Diptères hématophages, vecteurs des Filarioses, Malaria, Fièvre jaune, etc..., est à même de s'étendre à d'autres Diptères tels que la *Musca, Chrysomya, Lucilia,* etc..., la structure de l'ovariole étant du même type. Comme l'on peut s'y attendre la méthode considérée sera de première importance pour le contrôle de l'efficacité de la lutte contre les mouches.

ADDENDA

Travaillant sur ce sujet depuis 1943 en Afrique, seul et loin de tout centre scientifique, il nous était impossible d'avoir accès à la littérature très récente concernant les travaux des chercheurs soviétiques sur le même sujet. La rédaction de notre étude était déjà faite, lorsqu'au VIeme Congrès de Medicine Tropical et de Malaria à Lisbonne, Septembre 1958, au cours d'échanges de vues avec des collègues entomologistes, nous avons eu connaissance que des chercheurs soviétiques avaient déjà publié des travaux concernant une méthode (DETINOVA, 1949) permettant l'identification de l'âge physiologique des Diptères et basée également sur l'étude des vestiges du processus de l'ovulation chez l'insecte. Or, la lecture du travail précité, ainsi que des travaux faits par des auteurs anglais (LEWIS, 1958a, LEWIS, 1958b; BERTRAM and SAMARAWICKREMA, 1958) nous a permis de constater:

1) que ces chercheurs considèrent les vestiges de l'épithélium folliculaire des oeufs ovulés comme étant des *corpora lutea* (*), éléments incompa-

---

(*) Notons comme exemple du point de vue des chercheurs énumérés cette citation: « The Russian work showed for *Anopheles maculipennis* that when an egg passes from its follicle at oviposition it leaves behind a corpus luteum in the form of a dilatation of the tube connecting the ovariole to the lumen of the oviduct in the ovary » (BERTRAM and SAMARAWICKREMA, 1958).

tibles, selon notre point de vue, avec la structure ovarienne chez l'insecte. A noter que les *corpora lutea* se trouvent dans l'ovaire des mammifères où ils jouent le rôle des glandules endocrines.

2) que ces chercheurs dissèquent les ovarioles pour libérer les « *corpora lutea* ».

Au contraire, nous avons examiné l'ovaire in toto sans disséquer les ovarioles.

Nous ne cherchons nullement à nous attribuer la priorité de la méthode décrite dans le présent travail. Celui-ci expose simplement le phénomène de l'ovulation chez les Diptères et apporte la solution à certains problèmes épidémiologiques importants et depuis longtemps débattus.

(*Fait aux laboratoires des Services de l'Hygiène à Léopoldville, Elisabethville, et Bukavu*).

DETERMINAZIONE DELL'ETA' FISIOLOGICA DEI DITTERI. UN NUOVO METODO BASATO SULLA RICERCA DELLE VESTIGIA DEL PROCESSO DI OVULAZIONE.

Definito il ruolo notevole svolto in malariologia dalla possibilità di classificare (MER, 1932; POLOVODOVA, 1941) le popolazioni di femmine di anofeli in nullipare e multipare, si constata come l'epidemiologia stia traversando una profonda crisi quanto allo stesso problema nei Ditteri ematofagi (Nematoceri e Brachiceri) vettori delle filariosi. Anche qui però, precisamente come negli anofeli infetti da *Plasmodium*, la femmina nullipara che ha fatto il suo pasto di sangue su un soggetto affetto da filariosi è capace a sua volta di infestare l'ospite umano che pungerà dopo l'ovoposizione (WANSON e LEBIED, 1948). Per la prima volta viene data la spiegazione fisiologica di questa notevole coincidenza che si ha nella durata dei due cicli evolutivi, del ciclo gonotrofico nell'insetto, cioè, e di quello del ciclo evolutivo della larva della filaria.

Sono passate in rassegna le due fasi conclusive delle ricerche effettuate sulla determinazione dell'età fisiologica dei Ditteri:

1) La costatazione sperimentale dell'esistenza di vestigia di ovulazioni anteriori, in forma di un piccolo sacco per ciascuna ovulazione compiuta, nei ditteri esaminati e di età nota (*Aëdes aegypti, Anopheles gambiae*). Nelle femmine che hanno più volte deposto questi piccoli sacchi, vestigia degenerate dell'epitelio follicolare di un uovo maturato, circondato dalla parte basale della membrana avvolgente l'ovariolo, sono disposti in catena. E' implicito che gli ovari delle nullipare non presentano questi elementi vestigiali.

2) L'applicazione di questi dati ad una popolazione di *Simulium damnosum*, nella ricerca dell'età della femmina, *non infestata*, in natura durante la stagione delle pioggie. Viene citata una longevità di almeno 65 giorni. Bisogna inoltre notare che la longevità di *A. aegypti, Culex fatigans, A. gambiae, Chrysops silaceus* e *C. dimidiatus* misurata con lo stesso metodo è, nella stessa epoca dell'anno, identica a quella di *S. damnosum*.

Per quanto concerne i *S. damnosum* infestati da *Onchocerca volvulus*, e lo stesso è per *C. silaceus* e *C. dimidiatus* infestati da *Loa loa* e catturati al momento della puntura, si è potuto mettere in evidenza il fatto dell'esistenza di un grande scarto

tra il parassitismo nelle multipare di 1° grado e di 2° grado e la comparsa del parassitismo nei vettori di multiparità superiore. Ciò conferma la tesi che la longevità dei vettori di filariosi è fortemente compromessa dall'evoluzione intrasinciziale delle larve di filaria di cui oggi conosciamo la natura ed il meccanismo (LEBIED, 1957).

E' stato altresì notato che i vettori (*S. damnosum, C. silaceus* e *C. dimidiatus*) nullipari catturati al momento della puntura nei focolai di filariosi sono sempre negativi dal punto di vista del parassitismo. Ciò è come dire, considerata la sua precisione, le sue larghe possibilità e facilità di applicazione, che il nuovo metodo di identificazione dell'età fisiologica dei Ditteri vettori di malattie (malaria, filariosi e febbre gialla) è di efficacia superiore ai metodi attualmente noti ed applicati agli anofeli (MER e POLOVODOVA).

DETERMINATION OF THE PHYSIOLOGICAL AGE OF DIPTERA. A NEW METHOD BASED ON THE EXAMINATION OF THE VESTIGES OF THE OVULATION PROCESS.

Defining the notable role played in malariology by the possibility of classifying (MER, 1932; POLOVODOVA, 1941) the populations of female anophelines into nullipares and multipares, it is shown that epidemiology is undergoing a profound crisis over the same problem in the haematophagic Diptera (Nematocera and Brachicera) which are vectors of filariasis. Here too however, exactly as with the anophelines infected with *Plasmodium,* the female nullipare that has made her blood meal on a subject affected by filariasis is able to infect every human host that she punctures after oviposition (WANSON and LEBIED, 1948). The physiological explanation is given for the first time of the notable coincidence of the length of the two evolutive cycles *i. e.* of the gonotrophic cycle of the insect and of the evolutive cycle of the filaria larva.

The two conclusive phases of the research performed on the determination of the physiological age of the Diptera are reviewed as:

1 — The experimental demonstration of the existance of anterior vestiges of ovulation in the form of a little sac for each ovulation performed, in diptera examined of known age (*Aëdes aegypti, Anopheles gambiae*). In females who have laid eggs more than once these little sacs, which are degenerate vestiges of the follicular epithelium of a mature egg surrounded by the basal part of the enveloping ovarian membrane, are arranged in chains. It is implicit that the ovaries of nullipares do not show these vestigial elements.

2. — The application of this data to a population of *Simulium damnosum* in the study of the age of *uninfected* females in nature, during the rainy season. A life span of at least 65 days is described. It is necessary to note also that the life span of *A. aegypti, Culex fatigans, A. gambiae, Chrisops silaceus* and *C. dimidiatus* measured with the same method and at the same time of year is identical to that of *S. damnosum.*

With regard to *S. damnosum* infected with *Onchocerca volvulus,* and the same for *C. silaceus* and *C. dimidiatus* infected with *Loa loa,* and captured at the moment of puncture, it was possible to show the existance of a large rejection of parasitism in multipares of the 1st and 2nd order and the appearance of parasitism in vectors of higher multiparity. This confirms the hypothesis that the life span of vectors of filariasis is strongly compromised by the intrasyncitial evolution of the filarial larvae for which today we know the nature and mechanism (LEBIED, 1957).

It was also noted that the nulliparous vectors (*S. damnosum, C. silaceus* and *C. dimidiatus*) captured at the moment of puncture in foci of filariasis were always negative from the point of view of parasitism. That is to say, considering its pre-

cision, its large possibility and ease of application that the new method of determinig the physiological age of the Diptera vectors of diseases (malaria, filariasis, and yellow fever) is of superior effectivennes to the methods at present known and applied to anophelines (MER and POLOVODOVA).

BIBLIOGRAPHIE

O.M.S. (1954): Comité d'Experts de l'Onchocercose. Premier rapport, N. 87, Genève.

CHRISTOPHERS, S. R., SINTON, J. A., and COVELL G., (1939): How to Do a Malaria Survey. *Health Bull. 14. 4th ed. Govt. Press., Calcutta.*

CROSSKEY R. W. (1954): Infection of *Simulium damnosum* with *Onchocerca volvulus* during the Wet Season in Northern Nigeria. *Ann. Trop. Med. and Parasit. 48*, 152-9.; *Trop. Dis. Bull.* 1955, *52*, 68.

DALMAT, H. T. (1955): The Black Flies (*Diptera, Simulidae*) of Guatemala and their role as Vectors of Onchocerciasis. *Smithsonian Miscellaneous Collections, 125*, N. 1. Washington.

FREEMAN P. and DE MEILLON B. (1953): Simuliidae of the Ethiopian Region. London. (Références).

HUGHES M. H. (1952): Some observations on the bionomics of *Simulium damnosum* Theo, in the Southern Gold Coast. *W. Afr. Med. Journ. 1*, 3-7. (référé chez P. FREEMAN and BOTHA DE MEILLON, 1953).

LEBIED B. (1950): Une nouvelle théorie endémiologique. Sur le rôle de la « fonction du parasitisme x mécanisme du vol du vecteur » comme facteur décisif de l'établissement du foyer de l'endémicité de l'Onchocercose et de filarioses en général. 54 pp., 2 p., Dijon. Imprimerie Darrantierre.

LEBIED B. (1957): Iconographie de l'évolution intrasyncytiale de *Loa loa* chez *Chrysops*. (Note preliminaire sur les facteurs, interne et externe, déterminants du cyle évolutif des *Filariata* (Scrjabin) chez leurs hôtes intermédiaires). *Ann. Soc. Belge de Med. Trop. 37*, 641-646.

LEWIS D. J. (1953): *Simulium damnosum* and its relation to onchocerciasis in the Anglo-Egyptian Sudan. *Bull. Ent Res. 43*, 597-644 (référé chez P. FREEMAN and BOTHA DE MEILLON, 1953).

MER G. G. (1932): The Determination of the Age of Anopheles by Differences in the Size of the Common Oviduct *Bull. Ent. Research, 23*, 563.

MER G. G. (1936): Experimental Study on the Development of the Ovary in *Anopheles elutus* Edw. (*Dipt. Culic.*). *Bull. Ent. Research, 27*, 351.

NATH V. (1925): Egg-follicle of Culex. *Quart. J. Micr. Sc., 69*, 151

NICHOLSON A. J., (1921): The Development of the Ovary and Ovarian Egg of a Mosquito, *Anopheles maculipennis*, Meig. *Quart. J. Micr. Sc. 65*, 396.

POLOVODOVA V. P. (1941): *Med. Parasit. 10*, 387.

Symposum on Loiasis (1955): *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg., 49*, 98-157.

WANSON M. et LEBIED B. (1948): Note sur le cycle gonotrophique de *Simulium damnosum*. *Rev. Zool. Bot. Afr. XLI*, 68-81.

WANSON M. (1950): Contribution à l'étude de l'Onchocercose africaine humaine. *Ann. Soc. Belge de Med. Trop. 30*, 667-863.

ADDENDA

BERTRAM D. S. and SAMARAWICKREMA W. A. (1958): Age Determination for individual *Mansonioides* Mosquitoes. *Nature, 182*, 444-446.

LEWIS D. J., (1958): Observations on *Simulium damnosum* Theobald at Lokoja in Northern Nigeria. *Ann. Trop. Med. and Parasitology, 52*.

LEWIS D. J. (1958): The recognition of Nulliparous and Parous *Anopheles gambiae* by examining the Ovarioles. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. and Hyg. 52*, 456-461.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XX - N. 2 - Giugno 1959

STUDI SULLA RESISTENZA DEGLI ANOFELI AGLI INSETTICIDI - IV. DECLORURAZIONE DEL DDT IN CEPPI SENSIBILI E RESISTENTI DI *ANOPHELES ATROPARVUS* (*)

N. Frontali e S. Carta (**)

Viene saggiata la capacità di declorurare il DDT « in vivo » da parte di femmine adulte appartenenti a due ceppi sensibili e a due ceppi resistenti al DDT di *Anopheles atroparvus*. Le zanzare dei ceppi sensibili mostrano una attività pari o di poco inferiore a quelle dei ceppi resistenti.

Da quando nel 1950 Sternburg, Kearns e Bruce (4) dimostrarono che ceppi resistenti di *Musca domestica* L. erano capaci di declorurare il DDT trasformandolo nel prodotto relativamente non tossico DDE, molto lavoro è stato fatto su questo argomento. I risultati di questi studi condussero alcuni Autori a concludere che la capacità di declorurare il DDT è il fattore principale che determina la resistenza a questo insetticida. Secondo altri il fenomeno della resistenza è da imputarsi invece ad altri fattori in gran parte ignoti.

La maggior parte di questi studi riguardavano la mosca domestica, ma da quando si sono cominciati ad osservare casi di resistenza al DDT anche tra le zanzare, è diventato interessante sapere se anch'esse possiedono un tale meccanismo di detossificazione, e se, e fino a che punto, esso sia responsabile della resistenza. Perry e Brown (5) per esempio hanno trovato una certa capacità di declorurare il DDT in larve resistenti di *Anopheles taeniorhyncus* e di *Aëdes aegypti*, e Bami, Sharma e Kalra (6) in adulti di *Culex fatigans*. Nel presente lavoro si è confrontata la capacità di declorurare il DDT in diversi ceppi di *Anopheles atroparvus*, due sensibili e due resistenti al DDT.

(*) Studies on insecticide-resistant anophelines I (1), II (2), III (3).

(**) *Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Parassitologia - Roma.*

MATERIALI E METODI.

I ceppi di *Anopheles atroparvus* impiegati erano i seguenti:

1) SR, ceppo sensibile derivante da anofeli catturati nella provincia di Ferrara nel 1935, e da allora mantenuto al centro di malarioterapia dell'Istituto Superiore di Sanità (1).

2) SA, ceppo sensibile gentilmente fornito dal prof. Weyer, dell'Istituto di Medicina Tropicale di Amburgo (7).

3) RAFM, ceppo resistente al DDT, ottenuto per selezione da SR trattando a ogni generazione gli adulti, femmine e maschi, come descritto in precedenza (2). Le zanzare impiegate nel presente lavoro appartenevano alla 37ª e 38ª generazione.

4) RLAF, ceppo resistente al DDT, ottenuto per selezione da SR trattando a ogni generazione le larve e le femmine adulte (2). Gli individui impiegati nel presente lavoro appartenevano alla 37ª e 38ª generazione.

Sono state impiegate soltanto femmine adulte dei quattro ceppi suddetti. Esse venivano raccolte entro le 24 ore dalla nascita, e nutrite due volte con sangue nelle successive 48 ore.

Dopo 2-3 ore dal secondo pasto, esse venivano esposte al DDT. In cilindri di vetro di 20 cm. di altezza e 6 di diametro, gruppi di 20 individui venivano posti in contatto per 24 ore a 27° con carta da filtro Whatman 1 trattata con soluzioni di DDT in olio di risella, secondo il metodo di BUSVINE e NASH (8).

Le zanzare ancora vive dopo il trattamento venivano raccolte a gruppi di 20, lavate con tricloroetilene, macinate in mortaio con una piccola quantità di solfato di sodio anidro ed estratte con tetracloruro di carbonio. L'estratto era purificato per mezzo di una colonna di celite e acido solforico (9). Il contenuto in DDT e DDE dell'eluato veniva determinato col metodo di SCHECHTER, SOLOWAY, HAYES e HALLER (10). Le quantità rispettive di DDT e DDE venivano calcolate secondo PERRY e HOSKINS (11).

RISULTATI E DISCUSSIONE.

Le zanzare appartenenti ai ceppi sensibili venivano esposte a carte trattate con DDT all'1% in olio di risella. Le zanzare appartenenti ai ceppi resistenti venivano esposte a due concentrazioni diverse di DDT: 1% e 4% in olio di risella. Le mortalità sono indicate nella tabella.

In questo modo era possibile paragonare le zanzare sensibili con le resistenti sia alle stesse condizioni di esposizione (1% di DDT), sia a condizioni analoghe di intossicazione (il ceppo SR trattato con DDT all'1% presenta la stessa mortalità che il ceppo RAFM trattato con DDT al 4%; analogo confronto è possibile fra gli altri due ceppi). I risultati degli esperimenti sono esposti nella tabella 1. Se si confrontano fra loro nella tabella le quattro colonne (n. 1, 2, 3 e 5) corrispondenti alla dose 1% di DDT, si può osservare che i due ceppi resistenti mostrano una percentuale di declorurazione appena leggermente più elevata che i due sensibili. In base al calcolo statistico (tabella 2), soltanto la differenza fra le medie delle percentuali di declorurazione ottenute coi ceppi SA e RAFM mostra una certa significatività. Se d'altra parte si confrontano fra loro le colonne corrispondenti ad una mortalità dello stesso ordine, cioè la colonna 1 con la 6, e la colonna 2 con la 4,

non si osserva più nessuna significatività delle differenze fra le percentuali di declorurazione.

Fra la prima e la seconda di queste comparazioni è discutibile quale sia la più valida; probabilmente la seconda. La declorurazione leggermente più

TABELLA 1.

Declorurazione del DDT da parte di due ceppi sensibili (SA e SR) e di due ceppi resistenti al DDT (RAFM e RLAF) di Anopheles atroparvus

Ceppo	SA	SR	RAFM		RLAF	
Colonna n.	1	2	3	4	5	6
Trattamento con DDT in olio di risella	1%	1%	1%	4%	1%	4%
Mortalità	37,2%	12,0%	0%	11,6%	0%	22,5%
Numero degli esperimenti . .	4	4	6	8	3	3
DDT assorbito da 200 anofeli μg	8,3 ± 1,8	12,4 ± 1,7	13,2 ± 1,2	19.8 ± 1,3	6,9 ± 0,7	26,2 ± 1,9
DDT declorurato da 200 anofeli μg	3,3 ± 1,2	5,0 ± 0,7	7,3 ± 1,1	7,5 ± 0,8	3,5 ± 0,6	10,8 ± 2,2
% di declorurazione . . .	35,6 ± 5,9	41,2 ± 4,2	54,2 ± 4,4	37,3 ± 2,5	49,0 ± 3,5	41,3 ± 0,4

Medie ± errore standard.

efficiente nelle zanzare resistenti trattate con DDT all'1% in confronto alle sensibili a parità di dose, potrebbe essere infatti semplicemente una conseguenza delle migliori condizioni generali delle zanzare resistenti, che a questa dose non mostrano alcun segno di intossicazione, piuttosto che la causa della resistenza. Non sembra quindi che la resistenza dell'*Anopheles atroparvus* al

TABELLA 2.

Significatività delle differenze fra le medie indicate nella tabella 1 (t di Student).

	RAFM 1% (3)	RAFM 4% (4)	RLAF 1% (5)	RLAF 4% (6)
SA 1% (1)	P > 0,02	P > 0,5	P > 0,1	P > 0,3
SR 2% (2)	P > 0,05	P > 0,4	P > 0,2	P > 0,5

I numeri (1 - 6) si riferiscono alle colonne della tabella 1.

DDT possa essere senz'altro attribuita ad una aumentata attività del sistema enzimatico capace di declorurare il DDT a DDE.

Si è cercato inoltre di ottenere la declorurazione del DDT a DDE «in vitro» ad opera di omogenati di *Anopheles atroparvus* alle stesse condizioni usate da STERNBURG, VINSON e KEARNS (12) per le mosche, ma senza alcun successo. E' probabile che l'enzima proveniente dalle zanzare richieda condizioni particolari, diverse da quelle richieste da omogenati di mosche, come è suggerito anche da PERRY e BROWN (5), i quali non ottennero alcuna declorurazione «in vitro» da parte di omogenati di *Anopheles taeniorhyncus* e di *Aëdes aegypti*.

STUDIES ON INSECTICIDE RESISTANT ANOPHELINES. IV. DDT DEHYDROCHLORINATION IN NORMAL AND RESISTANT *ANOPHELES ATROPARVUS* STRAINS.

The ability to dechlorinate DDT « in vivo » was studied in adult females from two normal and two resistant strains of *Anopheles atroparvus*. The mosquitoes from the resistant strains (RAFM and RLAF) were exposed by tarsal contact on papers treated with two different concentrations of DDT in risella oil, 1% (O mortality), and 4% (11.6 and 22.5% mortality). The mosquitoes from the normal strains (SR and SA) were exposed only to the concentration of 1% (37.2 and 12%mortality). The DDT and DDE content of the mosquitoes still alive after 24 hours treatment was determined, and the percent of dechlorinated DDT was calculated.

Two comparisons were possible between normal and resistant mosquitoes — 1) at the same conditions of exposition (1% DDT in risella oil), and 2) at similar conditions of mortality (11.6 and 12.0, 22.5 and 37.2%). As for the first type of comparison, one of the differences between means shows a slight significance. But if the second type of comparison is taken into account, then the differences between the means are not significant any more. It is discussed which type of comparison is more reliable. It is concluded that the resistance to DDT of the present strains of *Anopheles atroparvus* cannot be explained with o higher activity of the enzyme system dechlorinating DDT to DDE.

BIBLIOGRAFIA

1) MOSNA E., RIVOSECCHI L. and ASCHER K. R. S. (1958): *Bull. Wld. Hlth. Org., 19*, 297.
2) MOSNA E., PALMIERI C., ASCHER K.R.S., RIVOSECCHI L. and. NERI I. (1959): *Bull. Wld. Hlth. Org., 20*, 63.
3) NERI I., ASCHER K.R.S., and MOSNA E. (1958): *Ind. Jour. Malar., 12*, 33.
4) STERNBURG J., KEARNS C. W. and BRUCE W. N. (1950): *J. Econ. Ent., 43*, 214,
5) BROWN A. W. A. and PERRY A. S. (1956): *Nature* (London), *178*, 368.
6) BAMI H. L., SHARMA M. I. D. and KALRA R. L. (1957): *Bull. Nat, Soc. Mal. Mosq. borne Dis., 5*.
7) KUHLOW F. (1957): *Zeitschr. Tropenmed. u. Parasit. 8*, 532.
8) BUSVINE J. R. and NASH R. (1954). *Bull. Ent. Res., 44*, 371.
9) DAVIDOW B. (1950): *J. Ass. Off. Agr. Chem., 33*, 130.
10) SCHECHTER M. S., SOLOWAY D. B., HAYES R. A. and HALLER H. L. (1945): *Ind, Eng. Chem. Anal. Ed., 17*, 704.
11) PERRY A. S. and HOSKINS W. M. (1951): *J. Econ. Ent., 44*, 850,
12) STERNBURG J., VINSON E. B. and KEARNS C. W. (1935): *J. Econ. Ent., 46*, 513.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XX - N. 2 - Giugno 1959

DIFFERENZE OSSERVATE TRA CEPPI DI *MUSCA DOMESTICA* L. NELLE VARIAZIONI DI RISPOSTA AI TRATTAMENTI TOSSICOLOGICI DETERMINATE DA CONDIZIONI SPERIMENTALI

R. MILANI (*)

Le differenze nel decorso dell'abbattimento che si osservano nelle intossicazioni provocate da concentrazioni diverse di DDT in campioni di mosche trattati per contatto tarsale sono molto grandi nel caso di ceppi sensibili (*kdr+*), piccole nel caso di ceppi resistenti (*kdr*). Ceppi sensibili presentano tra loro lievi, ma sistematiche differenze di tolleranza.

La temperatura, che influisce sulla efficacia dei trattamenti, ha effetti di grado diverso nei vari ceppi; inoltre il coefficiente termico di azione può essere, per mosche di uno stesso ceppo, positivo o negativo a seconda che l'intossicazione sia determinata rispettivamente da una dose forte o debole.

Queste cause di variabilità sono apprezzabili anche in trattamenti effettuati in condizioni ambientali.

Numerose ricerche hanno consentito di accertare quali fattori influiscono sulla efficacia degli insetticidi e quindi sulle informazioni deducibili dalla sperimentazione. Condizioni fisiologiche degli individui (stato trofico, stadio di sviluppo ed età, sesso, ciclo stagionale), fattori ambientali (temperatura, umidità, affollamento degli individui sottoposti al trattamento), modalità di somministrazione del tossico (applicazione topica o contatto tarsale; residui cristallini o soluzioni; natura del solvente) sono le principali cause di variabilità. (BROWN, 1958; METCALF, 1955; WIGGLESWORTH, 1955; MENN et. al. 1957). Scarseggiano però nella letteratura sia osservazioni comparative tra ceppi aventi proprietà profondamente diverse, sia esempi della interazione di più variabili. La presente nota mira a portare un contributo comparativo e ad integrare la conoscenza delle caratteristiche di ceppi usati dall'autore per le ricerche sulla genetica della resistenza.

(*) *Istituto di Zoologia "Lazzaro Spallanzani" dell'Università di Pavia.* (Direttore: Prof. C. JUCCI).

NOTIZIE TECNICHE.

E' stato esaminato il decorso dell'abbattimento causato dal DDT in campioni trattati in condizioni diverse.

I trattamenti tossicologici sono stati effettuati determinando contatto tarsale con superfici di carta bibula impregnate di soluzioni oleose (olio Shell Risella 117) di DDT tecnico; l'uso di imbuti separatori come sostegno delle superfici trattate ha consentito di prelevare periodicamente gli individui abbattuti sottraendoli al contatto con l'insetticida, secondo la tecnica già descritta (MILANI, 1954). I trattamenti a temperature controllate furono eseguiti in cabine in muratura termoregolate (± 1 C.).

I risultati sperimentali sono rappresentati in forma grafica, ponendo le percentuali cumulate di individui abbattuti in tempi successivi in scala di probit e i tempi in scala logaritmica; questa rappresentazione rettifica le risposte di campioni sensibili, trattati in condizioni sperimentali non sfavorevoli.

EFFETTO DELLE CONCENTRAZIONI SUL DECORSO DELL'ABBATTIMENTO IN CAMPIONI DI CEPPI SENSIBILI (*kdr* +) E DI CEPPI RESISTENTI (*kdr*).

Le superfici di trattamento (dischi Wathman n. 2) furono impregnate con quantità uguali di soluzioni in olio Shell Risella 117.

Per ottenere per unità di superficie quantità di insetticida superiori a quelle consentite dalla moderata solubilità del DDT nel solvente e per facilitare l'impregnazione della carta da filtro aumentando la fluidità della soluzione, ad ogni parte di olio furono aggiunte due parti di etere etilico; le concentrazioni sono tuttavia riferite all'olio, che solo rimane sulle superfici di trattamento come solvente dell'insetticida.

Le concentrazioni usate furono: 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,62%, in quantità tale da ottenere in corrispondenza di ogni cm^2 di superficie i seguenti quantitativi di DDT, in mg.: 0,4; 0,2; 0,1; 0,05; 0,025.

Furono usati i seguenti ceppi, in parte di origine selvatica colonizzati di recente oppure da tempo, in parte derivati da incroci vari.

Sensibili: *Terminillo* + 1027, F_5
Ventotene + 1038, F_5
Ventotene + 1045, F_5
Vicu F_{17}
Tripoli + F_{38}
costa turgida F_9

Resistenti: *Ponza* 1003, *kdr;* F_3
ocra; gap; mel; kdr F_3
ocra; kdr F_9

TABELLA 1.

Trattamenti effettuati con concentrazioni diverse di DDT su campioni di ceppi kdr *e* kdr+ *e mortalità percentuali osservate.*

Ceppo	Saggio	t°	mg/cm²	N. individui trattati ♀♀	N. individui trattati ♂♂	°/₀ morti ♀♀	°/₀ morti ♂♂	Durata del trattamento
ocra; kdr F_9 : . . .	70*a*	25°	0,4	158	155	48,73	97,42	24^h
	70*b*	»	0,4	139	150	46,04	98,66	24^h
	70*c*	»	0,4	176	155	51,14	98,06	24^h
	70*d*	»	0,2	162	124	35,18	82,26	24^h
	70*e*	»	0,1	178	150	32,58	81,33	24^h
	70*f*	»	0,05	88	83	21,59	86,16	24^h
	70*g*	»	0,025	50	36	22,00	86,11	24^h
ocra; gap; mel; kdr : .	81*a*	23°	0,4	47	17	34,04	82,35	9^h
	81*b*	»	0,2	75	28	10,66	57,14	9^h
	81*c*	»	0,1	52	20	17,30	60,00	9^h
Ponza + 1003; kdr :	89*a*	25°	0,4	42	31	45,24	87,09	8^h
	89*b*	»	0,2	81	62	14,81	38,71	8^h
	89*c*	»	0,1	52	67	11 54	10,45	8^h (0 abbattute)
	89*d*	»	0,05	38	43	0,	6,97	8^h (» »)
	89*e*	»	0,025	16	28	6,20	10,72	8^h (» »)
Terminillo + 1027 : .	83*g*	23°	0,4	116	85	100 —	100 —	45′
	83*h*	»	0,2	109	109	93,58	100 —	< 90′
	83 *i*	»	0,1	117	106	37,61	68,87	5^h
	83 *l*	»	0,05	31	53	16,13	71,70	5^h
	83*m*	»	0.025	16	22	18,75	77,27	5^h
Ventodene + 1045: .	84*g*	25°	0,4	44	44	77,27	100 —	< 90′
	84*h*	»	0,2	90	91	34,44	84,62	5^h
	84 *i*	»	0,1	87	57	3,45	52,62	5^h
	84 *l*	»	0,05	31	28	0,00	17,86	5^h (0 abbattute)
	84*m*	»	0,025	47	51	0,00	21,56	5^h (» »)
Vicu + F_{17} : . .	103*c*	25°	0,4	12	19	83,33	100 —	< 90′
	103*d*	»	0,2	14	27	7,14	74,07	2^h
	103*e*	»	0,1	20	35	35 —	71,42	5^h
	103*f*	»	0,05	35	28	20 —	89,28	5^h
Tripoli + F_{38} : .	110*a*	23°	0,4	88	124	77,27	97,58	< 90′
	110*b*	»	0,1	67	85	14,92	38,82	5^h
	110*c*	»	0,2	147	141	7,48	47,52	5^h
	110*d*	»	0,05	86	79	9,30	15,19	5^h
	110*e*	»	0,025	102	78	4,30	1,28	5^h (0 abbattute)
Costa turgida : . . .	115*a*	26°	0,4	66	88	100 —	100 —	45′
	115*b*	»	0,2	95	74	92,86	100 —	55′
	115*c*	»	0,1	47	44	87,23	100 —	150′
Danimorca + : . . .	6*e*	23°	0,4	42	40	92,89	100 —	21^h (3^h 20′)*
	6*d*	»	0,1	44	58	31,82	48,27	21^h (3^h 55′)*
	6*c*	»	0,025	24	23	16,66	34,78	21^h
	6*b*	»	0,006	62	63	12,90	52,28	21^h
	6*a*	»	0,003	72	136	9,72	72,06	21^h
Danimarca + : . . .	7*e*	19°	0,4	42	34	92,85	97,06	10^h (5^h 50′)*
	7*d*	»	0,2	24	20	50 —	65 —	10^h (2^h 35′)*
	7*c*	»	0,1	32	25	25 —	50 —	10^h (5^h 50′)*
	7*b*	»	0,05	47	46	6,38	47,82	10^h (5^h 50′)*
	7*a*	»	0,025	53	36	1,90	5,55	10^h (0 ♀ ; 4 ♂ abbattuti)

(*): Periodo rappresentato nei grafici.

I risultati ottenuti sono rappresentati nelle fig. 1 e 2.

Dosi diverse determinano sostanziali differenze nel decorso dell'abbattimento in tutti i ceppi sensibili (*kdr* + *kdr* +): con il diminuire della dose ritarda il tempo di inizio e diminuisce l'inclinazione dei tracciati, espressione questa di una maggiore variabilità delle risposte individuali (Fig. 1). Questo fatto è in perfetto accordo con tutte le osservazioni effettuate sulla mosca, indipendentemente dalla tecnica di somministrazione e dal criterio adottato per determinare la risposta (Hoskins e Gordon, 1956).

I ceppi sensibili, pur comportandosi nelle linee generali in modo simile, presentano tuttavia differenze non trascurabili: così (fig. 1) ♀♀ *Ventotene* + risultano più sensibili di ♀♀ *Tripoli* + alle dosi di 0,4 e 0,2 mg/cm², ma sono praticamente immuni alla dose di 0,1 mg/cm², alla quale le ♀♀ *Tripoli* + sono ancora sensibili.

Nei ceppi *kdr kdr*, invece, il decorso dell'abbattimento risulta assai meno influenzabile dalla quantità di DDT presente per unità di superficie, almeno

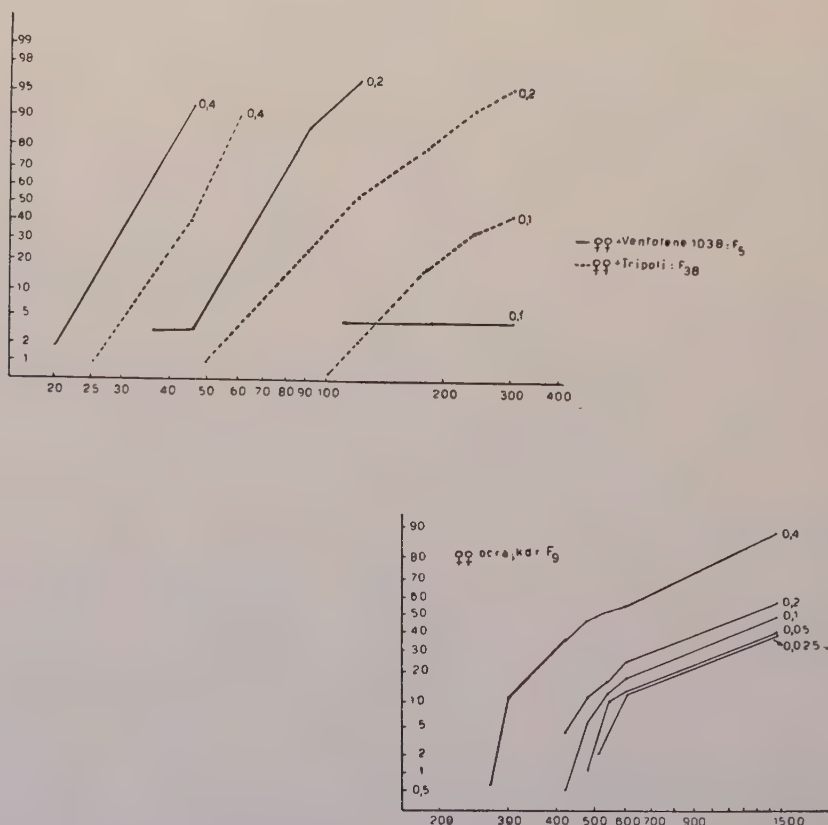


Fig. 1. — Decorso dell'abbattimento in campioni di due ceppi sensibili (alto) e di un ceppo resistente (basso) trattati con dosi diverse.

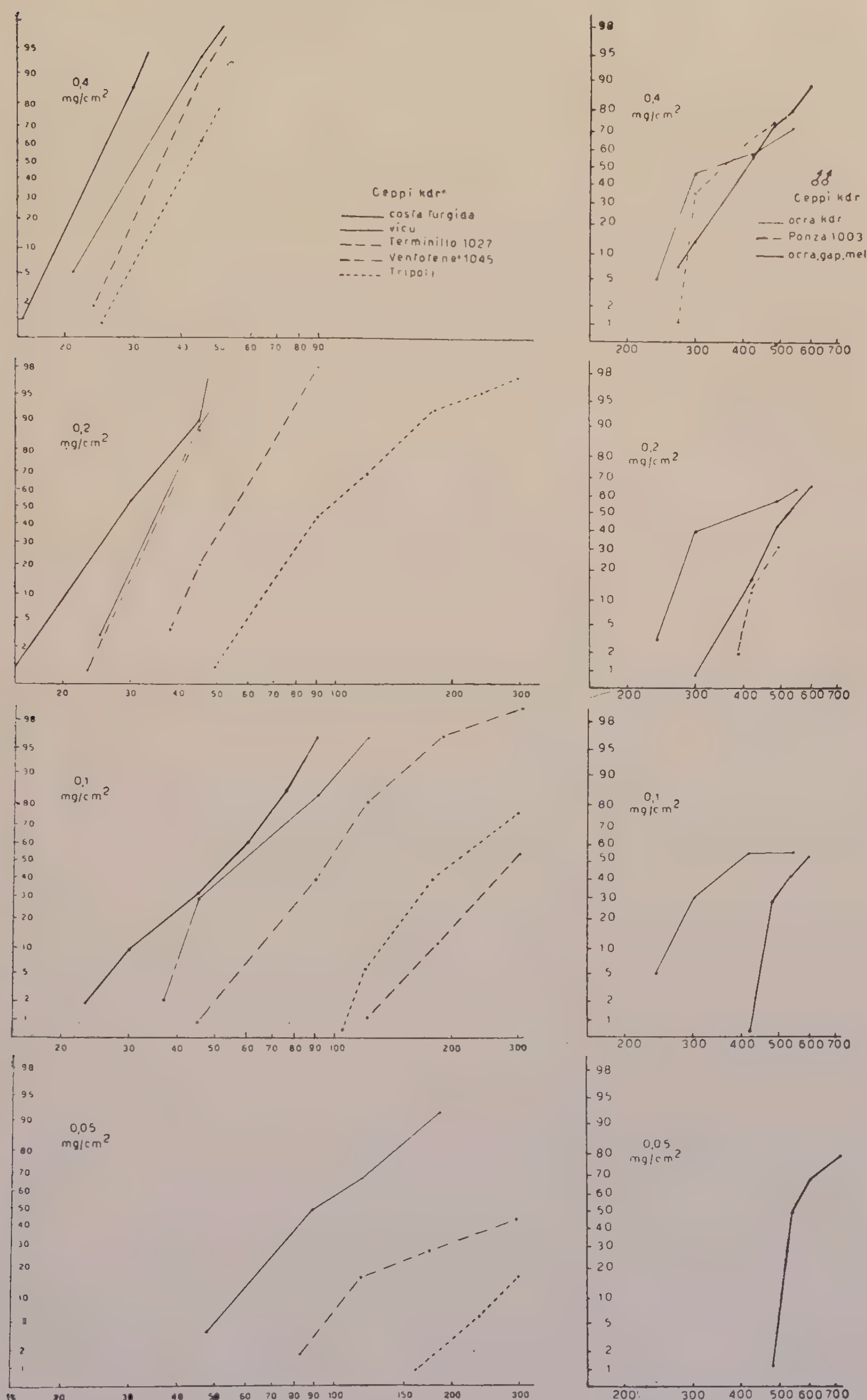


Fig. 2. — Decorso dell'abbattimento in campioni di cinque ceppi sensibili (sinistra) e di tre ceppi resistenti (destra) trattati con dosi diverse. Le risposte a trattamenti effettuati con dosi decrescenti sono ordinatamente disposte dall'alto verso il basso.

nell'ambito tra 0,2 e 0,025 mg/cm². La notevole differenza di efficacia della dose 0,4 mg/cm,² rispetto alle dosi inferiori può forse essere attribuita al diverso stato fisico del DDT, che a questa dose (ottenuta dalla soluzione al 10%) facilmente precipita in microcristalli trasportabili dai pulvilli. Le concentrazioni hanno efficacia ordinatamente decrescente, ma molto simile (Fig. 1).

Mentre nella fig. 1 le risposte di campioni trattati con dosi diverse sono riunite per ceppi, nella fig. 2 le risposte di ceppi diversi sono riunite per dosi; nel primo caso sono stati scelti campioni di ♀♀ nel secondo campioni di ♂♂ al fine di fornire una documentazione più completa.

Il diminuire delle concentrazioni esalta le differenze esistenti tra i ceppi sensibili; l'ordine di tolleranza però è generalmente rispettato, benchè le risposte varino in modo diverso; alla dose massima, i tracciati sono pressochè paralleli, le differenze tra i ceppi non sono molto grandi e la risposta segue la stessa legge: secondo una definizione entrata nell'uso, i ceppi sembrano differire solo in « vigor tolerance » (Hoskins e Gordon, 1956; Brown, 1958); tuttavia, col diminuire delle dosi, aumenta progressivamente l'evidenza delle differenze tra i ceppi fino a rivelare in taluni campioni una eterogeneità che non era palese alle dosi maggiori.

Tra i ceppi resistenti, esaminati però meno estesamente, le differenze sono minori, sia tra i ceppi sia tra le risposte di ogni ceppo ai trattamenti effettuati con dosi diverse. Inoltre le differenze tra le due categorie di ceppi (sensibili e resistenti) molto marcate alla dose maggiore, si attenuano progressivamente con il diminuire della concentrazione per unità di superficie.

Scegliendo dosi opportunamente graduate (ad es. 0,1 e 0,4 rispettivamente) è possibile ottenere risposte simili da ceppi sensibili e da ceppi resistenti (ad es. ♀ *Tripoli* + F_{38} dose 0,1 e *ocra, kdr* dose 0,4: fig. 1).

Sulla semplice osservazione delle risposte ai trattamenti tossicologici non è possibile ovviamente impostare una discussione sulle possibili cause delle differenze osservate, sia tra ceppi sia tra individui dello stesso ceppo; tuttavia, possiamo asserire che, nell'ambito delle dosi considerate, evidentemente la velocità con cui il DDT raggiunge nel luogo d'azione concentrazioni sufficienti per determinare sintomi di paralisi, dipende, nei ceppi sensibili, soprattutto dalla quantità di sostanza presente nell'ambiente. Nei ceppi resistenti i meccanismi di difesa vengono lentamente inattivati da quantità di insetticida, che, nell'ambito di dosi qui considerate, sono poco influenzate dalla quantità disponibile nell'ambiente esterno (benchè forse lo stato fisico della sostanza possa avere una importanza notevole). E' opportuno ricordare che i ceppi resistenti usati, sono resistenti all'abbattimento, come un ceppo (indicato Rroma o *Ritalian*) per il quale fu accertato che la decloridratazione avviene con una velocità insufficiente per assicurarne l'elevata resistenza (Busvine, 1951; Winteringham, 1952). I ceppi *kdr* e il ceppo Rroma hanno origine geografica comune.

TABELLA 2

Trattamenti effettuati con concentrazioni diverse a diverse temperature con campioni di ceppi kdr+ e mortalità % osservate.

Ceppo	Saggio	t°		mg/cm²	N. individui trattati ♀♀	N. individui trattati ♂♂	Mortalità % ♀♀	Mortalità % ♂♂	Durata trattamento
bwb ; dv ; kdr	254	20°	25° (1)	0,4	52	62	84,62	88,70	96^h
	255	30°		0,4	34	57	91,17	82,46	55^h
bwb ; gap ; kdr +	350	20°	26 (1)	0,4	29	40	68,96	97.50	1^h 2'
	349	30°		0,4	39	34	97,44	100 —	50'
	351	20°		0,1	28	42	32,14	58,54	2^h 20'
	348	30°		0,1	28	45	75 —	82,22	15^h 30'
bwb ; (vti) ; kdr +	352*a*	20°	26° (1)	0,1	70	42	100 —	100 —	4^h
	352*b*	20°		0,1	64	73	100 —	100 —	4^h
Terminillo + 1031	♀♀ / ♂♂								♀♀ / ♂♂
	286 / 276	20°	27° (1)	0,4	53	56	30,19	98,21	1^h 10' / 50'
	284 / 279	30°		0,4	55	64	—	96,87	1^h 25' / 57'
	287 / 277	20°		0,2	54	55	3,70	81,82	5^h 25' / 1^h 10'
	285 / 280	30°		0,2	50	57	50 —	92,23	42^h / 57'
	288 / 275	20°		0,1	32	57	40,62	38,60	19^h / 2^h 15'
	294 / 278	30°		0,1	40	67	60 —	65,68	48^h 30' / 30^h
	294 ♀♀ anche	20°							72^h 20'
Terminillo + 1035	252	30°		0,4	51	35	100 —	100 —	42'
Terminillo + 1027	250	20°	25° (1)	0,4	27	19	—	10,53	1^h 11'
	251	25°		0,4	26	18	11,74	33,33	1^h 13'
	253	30°		0,4	28	28	10,71	60,71	4^h

(1) Temperatura alla quale sono stati mantenuti gli individui abbattuti, in attesa dell'esito finale accertato 48h dopo l'inizio dal trattamento.

Effetto della temperatura sul decorso dell'abbattimento.

La mortalità determinata dal DDT è generalmente maggiore, a parità di dose, a bassa che ad alta temperatura [coefficiente termico di azione (c.t.a.) negativo]; tuttavia casi nei quali « le tossicità relative sono misurate in termini di tempo richiesto per [*determinare*] una certa mortalità rientrano nella categoria con coefficiente termico positivo... » (Menn et al. 1957).

La mosca è normalmente inclusa tra gli insetti per i quali il c. t. a. è negativo (Hoffman, 1949; Metcalf, 1955; Brown, 1958); è stato dimostrato che dosi sopportate senza sintomi di intossicazione a temperature elevate, possono scatenare violenti sintomi se la temperatura si abbassa (Tahori e Hoskins, 1953), analogamente a quanto si verifica nelle blatte (Vinson e Kearns, 1952).

Le presenti osservazioni, eseguite sull'abbattimento, hanno rivelato non solo notevoli differenze del c.t.a. tra i nostri ceppi ma anche rovesciamento del segno di esso a dosi diverse.

Per queste ricerche sono stati usati i ceppi sensibili *Terminillo* + 1027, F_{40}; *gap, bwb*, F_{36}; *Terminillo* + 1031, F_{40} e il ceppo resistente *bwb, dv, kdr*.

Alla dose di 0,4 mg/cm², campioni del ceppo resistente (*bwb, dv, kdr*) (Fig. 3) e di uno sensibile (*Terminillo* + 1027) (Fig. 4 e 5) hanno dato uguali risposte ai trattamenti eseguiti a 30° ed a 20° C; l'azione tossica è stata più rapida a 30° che a 20° C negli individui dei due sessi del ceppo sensibile *bwb gap* e nei maschi del ceppo *Terminillo* + 1031; tra le ♀♀ di questo ceppo, sensibile alla azione abbattente ma dotato di elevata capacità di recupero, l'abbattimento a 30° C è iniziato prima ed è terminato dopo che a 20° C, pur svolgendosi in modo continuo (Fig. 4).

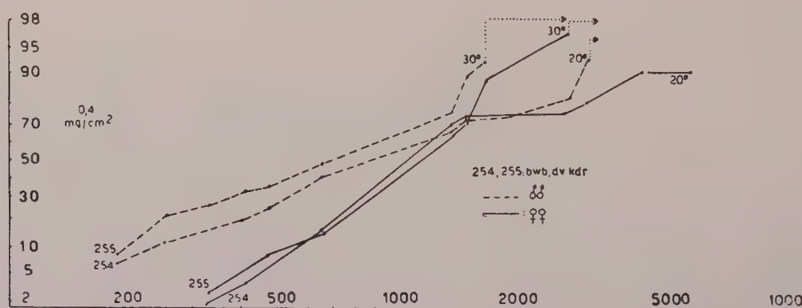


Fig. 3. — Decorso dell'abbattimento in campioni del ceppo *bwb, dv, kdr* trattati a temperature diverse, con la stessa dose.

Tra i ceppi sensibili (i soli per i quali è possibile il confronto tra ceppi) esistono dunque notevoli differenze nelle modalità con cui la temperatura influenza il decorso dell'intossicazione; queste differenze sono certamente legate

a variazioni proporzionalmente diverse della penetrazione e della eliminazione dell'insetticida (1).

Campioni dei due ceppi *bwb, gap* e *Terminillo* + 1031 sono stati trattati alle due temperature di 20° e 30° C anche con la dose 0,1 mg/cm². Questa dose è risultata nei due casi e nei due sessi assai più efficace a 20° che a 30° (coefficiente termico negativo), benchè tra i maschi l'abbattimento sia iniziato prima alla temperatura più elevata; a 30° C l'abbattimento dei ♂♂ è continuato per un tempo molto lungo ed è stato discontinuo, mentre a 20°, pur iniziando piuttosto tardivamente, è stato continuo; i tracciati che lo rappresentano sono quasi paralleli a quelli ottenuti con la dose 0,4 mg/cm². Il comportamento delle ♀♀ *bwb; gap* è stato perfettamente simile a quello dei ♂♂ dello stesso ceppo e del ceppo *Terminillo* + 1031, come era stato simile anche con la dose 0,4 mg/cm².

Le ♀♀ *Terminillo* + 1031, che con la dose 0,4 mg/cm² avevano dato una risposta particolare, non presentarono sintomi di intossicazione durante le 48 ore di contatto con la dose 0,1 mg/cm² a 30° C, mentre a 20° C ebbero un abbattimento tardivo, lento e discontinuo. Gli individui che a 30° C non avevano manifestato sintomi di intossicazione durante 48 ore di contatto, furono trasportati a 20° C; non si verificò un collasso, ma l'abbattimento iniziò, come nel campione trattato solo a questa temperatura, dopo circa 90' di permanenza a 20° C, e proseguì in modo molto simile; la presenza di qualche individuo particolarmente tollerante nel campione rimasto 48 ore a 30° C, determina una certa differenza nella parte terminale del tracciato.

Per il solo ceppo *Terminillo* + 1031 sono disponibili anche osservazioni compiute con la dose intermedia di 0,2 mg/cm². L'efficacia di questa dose fu molto simile, per i maschi, a quella della dose di 0,4 mg/cm² (le risposte furono pressochè coincidenti a 30° C e di poco ritardate a 20° C); le femmine diedero una risposta intermedia a quelle determinate dalle dosi 0,4 e 0,1; l'abbattimento iniziò molto prima a 30° C che a 20°, però si svolse durante un tempo assai più lungo; i due tracciati perciò si incrociano; il decorso dell'abbattimento fu discontinuo ad ambedue le temperature. L'esito dei trattamenti effettuati con dose 0,4 e 0,2 alla temperatura maggiore differisce da quello ottenuto alla temperatura minore per il sovrapporsi di due processi: uno, a manifestazione precoce, che facilita, l'altro, a manifestazione tardiva, che ostacola l'intossicazione. Penetrazione ed eliminazione del DDT seguono leggi che si accordano con queste osservazioni: infatti l'assorbimento (Winteringham, 1952, Vinson e Kearns, 1952; Tahori e Hoskins, 1953, Menn et al. 1957), rapido nelle prime ore, rallenta in seguito; mentre la decloridratazione, inizialmente lenta, si svolge, almeno nelle prime ore, con intensità crescente;

---

(1) Tutti questi ceppi, benchè evidentemente dotati di proprietà diverse, danno risultati uguali negli incroci con *kdr*, almeno usando la dose 0,4 mg/cm².

assorbimento e decloridratazione aumentano in modo diverso, con l'aumentare della temperatura: perciò «... la sopravvivenza sarà favorita dalle temperature elevate quando le condizioni di esposizione sono tali che dopo un breve periodo di tempo la velocità di detossificazione, o magari di escrezione, eccede l'introduzione della sostanza tossica... In altre parole, la tossicità avrà un coefficiente termico negativo se la dose è moderata e somministrata in

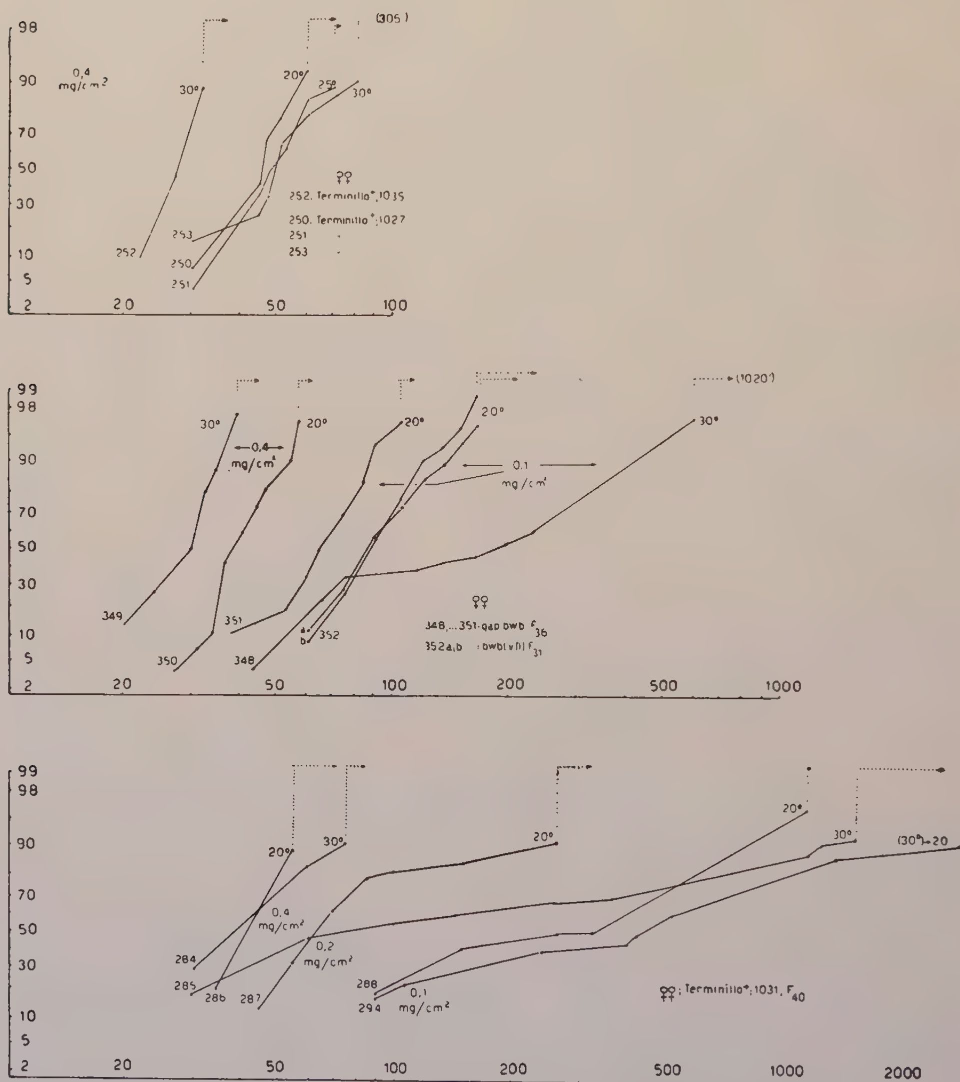


Fig. 4. — Decorso dell'abbattimento in campioni di ♀♀ di cinque ceppi sensibili trattati a temperature diverse, e, alcuni, con dosi di diversa efficacia. I trattamenti 352a, b [ceppo *bwb* (*vti*)] sono stati effettuati a 20°C con le stesse superfici tossiche con le quali sono stati effettuati i trattamenti 348 e 351, rispettivamente a 30° e 20° C.

una volta sola. Ma una dose forte, che uccide prima che l'introduzione cada ad un basso livello, avrà un coefficiente positivo» (MENN e coll., 1957). Questa è esattamente la situazione che si verifica negli esperimenti qui descritti, nei quali però è stata esaminata la velocità con cui compaiono i sintomi di paralisi; anche l'esame della mortalità percentuale (tab. 2) generalmente denota che l'efficacia del trattamento è maggiore alla temperatura più elevata.

Coordinando l'insieme dei fatti disponibili, si nota che la dose di efficacia

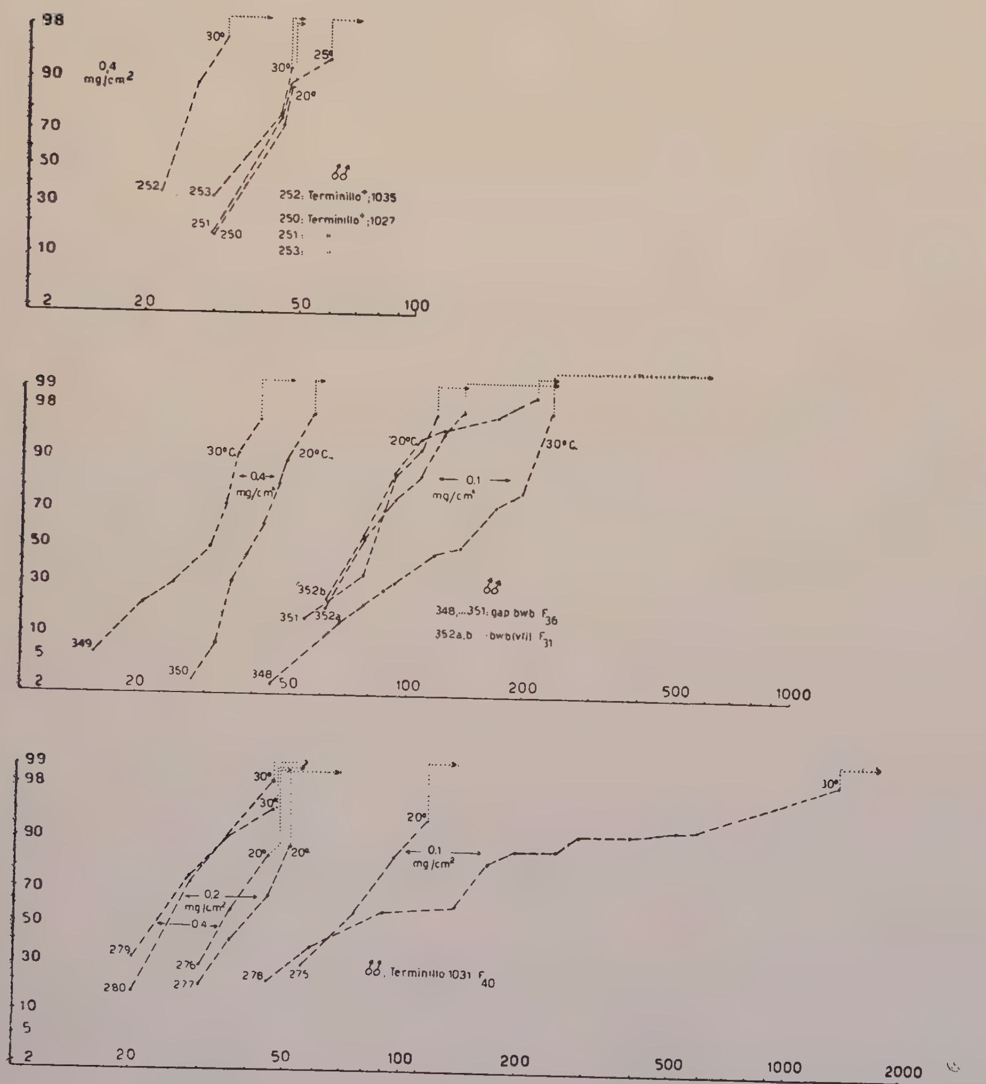


Fig. 5. — Decorso dell'abbattimento in campioni di ♂♂ di cinque ceppi sensibili, trattati a temperature diverse e, alcuni, con dosi di diversa efficacia (vedasi la didascalia della fig. 4 per i trattamenti 352a, b).

maggiore (0,4) ha determinato abbattimento con decorso molto simile tra gli individui dei due sessi dei seguenti ceppi trattati alle temperature accanto indicate: *Terminillo* + 1027 t. 20°, 25°, 30°; *bwb; gap*, t. 20° C e *Terminillo* 1031, t. 20° C; l'efficacia di questa dose è stata maggiore per i due ultimi ceppi nei trattamenti eseguiti alla temperatura più elevata; sembra giustificato dedurre che il ceppo *Terminillo* + 1027 differisca dagli altri per una caratteristica specificamente interessata nel processo di intossicazione e rilevabile, con la dose di 0,4 mg/cm², a 30° C e non a 20° C. Dato che le differenze di risposta osservate a 30° C rientrerebbero nelle definizioni di « vigor tolerance » (HOSKINS e GORDON, 1956, BROWN, 1958), questo esempio è significativo, perchè indica che anche per lievi differenze di tolleranza è possibile individuare l'azione di fattori specifici (1).

Il fatto che il campione di ♀♀ *Terminillo* + 1031, portato a 20°C dopo essere rimasto per due giorni a 30° C a contatto di 0,1 mg/cm², si sia comportato come se il trattamento fosse iniziato a 20°C, suggerisce che penetrazione ed eliminazione avessero precedentemente raggiunto perfetto equilibrio; questo non stupisce, dato che *a*) l'assorbimento rallenta molto dopo 10-12 ore; *b*) questo ceppo è dotato di una certa capacità di recupero e quindi di eliminazione dell'insetticida introdotto durante il contatto, anche con forti dosi (0,4 mg/cm²).

EVIDENZA DEI FATTI DISCUSSI NEI RISULTATI DI TRATTAMENTI EFFETTUATI A TEMPERATURA AMBIENTE.

Abbiamo visto che l'importanza della quantità di DDT presente nell'ambiente esterno nel determinare il decorso dell'intossicazione è grande per gli individui sensibili, mentre è relativamente scarsa per gli individui resistenti (*kdr*); inoltre la temperatura influisce in modo diverso a seconda dei ceppi e delle dosi.

Questi fatti influiscono inevitabilmente sul risultato di trattamenti effettuati in condizioni ambientali. Per accertarne il grado di evidenza, ho riunito dati raccolti in tempi diversi in condizioni di temperature controllate ma non intenzionalmente predisposte su campioni di un ceppo eterogeneo di origine

---

(1) Il termine « vigor tolerance » è stato introdotto per indicare casi nei quali la efficacia degli insetticidi appare ridotta in grado modesto e in modo aspecifico; le rette di regressione tra dosi e risposte ottenute da ceppi sensibili e ceppi dotati di « vigor tolerance » risultano parallele. Il processo di intossicazione, sostanzialmente inalterato, richiederebbe dosi maggiori soltanto per una particolare robustezza o vigoria generale degli individui.

La espressione « vigor tolerance » è giustificabile nell'uso pratico, con valore puramente descrittivo; è invece criticabile l'ammettere che un aumento di tolleranza possa essere raggiunto senza precise interferenze con il processo di intossicazione.

selvatica (*Danimarca* +, ♂♂). I dati sono graficamente rappresentati nelle fig. 6. Risulta con evidenza che a parità di dose l'abbattimento si è svolto in

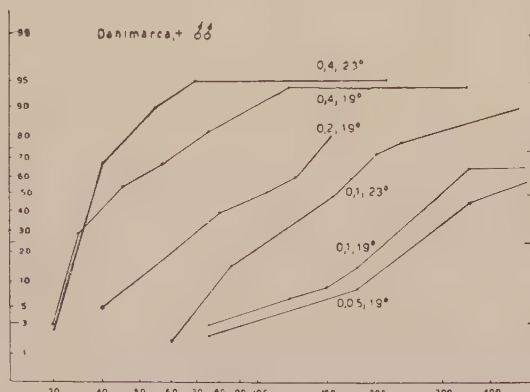


Fig. 6. — Decorso dell'abbattimento in campioni di ♂♂ del ceppo selvatico *Danimarca*+, trattati con dosi diverse in diverse condizioni di temperatura.

ritardo per una parte (dose 0,4) o tutto il campione (dose 0,1) alla temperatura inferiore (19° C); l'abbattimento inizia con ritardo e diminuisce progressivamente di intensità con il diminuire delle dosi, in modo analogo a quanto è illustrato per i ceppi sensibili nella fig. 1; ma i tracciati tendono a confluire nella parte terminale ed a decorrere, alle dosi minori, senza marcate discontinuità; in queste condizioni, in base ai fatti illustrati nella fig. 1, ci si attende che le differenze tra individui sensibili e individui resistenti risultino progressivamente attenuate.

DIFFERENCES IN THE EFFECT OF EXPERIMENTAL CONDITIONS ON THE RESPONSE TO TOXICOLOGICAL TREATMENT OF STRAINS OF HOUSEFLY.

The response to toxicological treatment is affected to different degrees by experimental conditions in strains of housefly.

Effect of the dosage.

Intoxication by tarsal contact with filter paper impregnated with oil solutions of DDT has been carried out on members of the following strains: *Terminillo* + 1027; *Ventotene* + 1045; *Vicu; Tripoli* +; *costa turgida* (susceptible strains) and *Ponza* 1003 *kdr; ocra gap, mel, kdr; ocra, kdr* (resistant strains).

Susceptible strains consistently show minor differences of response; in all cases with susceptible strains, knock-down occurs in different ways depending on the effectivenness of the dose; resistant strains give graded but very similar responses to intoxication at different doses. This implies that the amount of insectidide

available in the external environment is more directly effective on susceptible than on knock-down resistant strains.

The difference between susceptible and resistant individuals is best shown by highy effective doses.

Effect of temperature.

Strains *Terminillo* + 1027; *Terminillo* + 1031; *bwb gap* (susceptible) and *bwb; dv; kdr* (resistant) were used.

The effect of temperature on the response to treatment differ with strains; it can be without effect (*Terminillo* + 1027; *bwb; dv; kdr*), act similarly in both sexes (*bwb; gap*) or differently with sex (*Terminillo* + 1031) when the dose is high (0.4 mg/cm^2).

When the temperature has some effect, the temperature coefficient was found to be positive for a dose of 0.4 mg/cm^2 (the effectiveness of the dose increases with increasing temperature); it was found to be negative, however, for treatments done with o.1 mg/cm^2 on samples of *bwb; gap* and *Terminillo* + 1031 flies (which alone have been tested under these conditions).

Terminillo + 1031 females after having been in contact with 0.1 mg/cm^2 of DDT for two days with no sign of intoxication, when transferred to 20° C followed the same pattern of knock-down given by a subsample treated directly at 20°C.

The different power of discrimination which graded dosages have for susceptible and resistant individuals and differences in response after treatment at different temperatures (in the range of « normal laboratory temperatures ») are shown on samples of a recently colonised, heterogeneous strain.

BIBLIOGRAFIA

Brown A. W. A. (1958): Insecticide resistance in arthropods. *Wld Hlth Org. Monogr. 38.*

Busvine J. (1951): Mechanism of resistance to insecticides in houseflies. *Nature* (London) *168,* 193-194.

Hoffmann R. A. e Lindquist A. W. (1949): Effect of temperature on knockdown and mortality of house-flies exposed to residues of several chlorinated hydrocarbon insecticides. *J. econ. Ent. 42,* 891-893.

Hoskins W. M. e Gordon H. T. (1956): Arthropod resistance to chemicals. *Ann. Rev. Ent. 1,* 89-122.

Menn J. J., Benjamini E. e Hoskins W. H. (1957): The effects of temperature and stage of life cycle upon the toxicity and metabolism of DDT in the house fly. *J. econ Ent. 50,* 67-74.

Metcalf R. L. (1955): Organic insecticides. Inters. pub. N. Y.

Milani R. (1954): Comportamento mendeliano della resistenza alla azione abbattente del DDT e correlazione tra abbattimento e mortalità in *Musca domestica* L. *Riv. Parassitol. XV,* 513-542.

Tahori A. S. e Hoskins W. M. (1953): The absorption distribution and metabolism of DDT in DDT-resistant houseflies. *J. econ. Ent. 46,* 302-306.

Vinson E. B. e Kearns C. W. (1952): Temperature and the action of DDT on the American roach. *J. econ. Ent. 45,* 484-496.

Wigglesworth V. B. (1955): The mode of action of DDT. *in*: Muller P.: DDT; Verlag Birkhauser- Basel.

Winteringham F. P. W. (1952): Metabolism of DDT by resistant houseflies. *Nat. Res. Counc. Publ. 219,* 61-65.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XX - N. 2 - Giugno 1959

SULL'IMPIEGO DI UN NUOVO INSETTICIDA ORGANO-FOSFORICO NELLA LOTTA CONTRO LA *MUSCA DOMESTICA* (*)

M. Mariani e F. Oddo (**)

Vengono riferiti i risultati di esperimenti, condotti in laboratorio ed in campo pratico, relativi all'impiego di due diverse formulazioni di un nuovo insetticida organo-fosforico (Dition) nella lotta contro le mosche.

E' stato messo in evidenza che trattamenti di tipo parziale divisati in modo da interessare le maggiori fonti di infestazioni, sono di efficacia pari a quella di trattamenti totalitari, economicamente insostenibili.

L'efficacia del Dition si è manifestata anche nei confronti di popolazioni muscine originariamente dotate di modesto grado di resistenza ad altri esteri fosforici.

E' stata anche sottolineata l'opportunità di dominare con insetticidi di spazio (Piretrine sinergizzate) l'eventuale abnorme sviluppo di *Fannia canicularis*.

Sono descritti infine i primi risultati e le prospettive di un trattamento autunnale di lotta contro le mosche.

La lotta contro la Mosca domestica ha, in Sicilia, aspetti peculiari dipendenti soprattutto dallo scarso popolamento delle campagne. Infatti la media di case coloniche per Kmq. è di circa 16, corrispondente, in abitanti, al 10 % della popolazione dell'Isola. L'accentramento nelle comunità urbane che riconosce fra i suoi precipui fattori causali anche la grave endemia malarica che per molti secoli ha contribuito a rendere quasi impossibile la vita nell'agro siciliano, è rimasto immutato dopo la recente eradicazione dell'infezione malarica dall'Isola. I tentativi di colonizzazione del latifondo siciliano sono stati finora poco fruttuosi, e la maggior parte dei borghi rurali è rimasta disabitata. Pertanto, dopo il lavoro svolto nei campi, quasi tutti gli agricoltori rientrano nei centri urbani insieme agli animali da lavoro che vengono stabulati in locali, quasi sempre inadatti, adiacenti o facenti parte dell'abitazione. In

---

(*) Ricerche eseguite sotto gli auspici e con il contributo del Ministero della Sanità.

(**) *Istituto d'Igiene dell'Università di Palermo* (Direttore: Prof. G. D'Alessandro).

questi centri rurali le condizioni sopra descritte sono aggravate dalle difficoltà di smaltimento dei rifiuti solidi e dalla presenza di numerosissime concimaie irrazionali e sparse che costituiscono attivi focolai larvali di *Musca domestica, Muscina stabulans, Stomoxys calcitrans* e *Fannia canicularis.*

Altro importante aspetto del problema è la necessità di associare, nel maggior numero dei Comuni, la lotta anti-mosche alla lotta antianofelica. I due vettori di malaria dell'Isola e cioè *Anopheles labranchiae* e *Myzomya superpictus,* hanno conservato, dopo oltre 10 anni di lotta con insetticidi clorurati la loro originaria sensibilità al DDT (Mariani, 1956 e 1959) e, poichè il DDT non è stato eguagliato da altri insetticidi in fatto di durata dell'azione residua, esso non ha ancora sostituti nella lotta contro gli Anofeli. Ne consegue che gli insetticidi di scelta per la lotta abbinata devono contenere, oltre ad un estere fosforico attivo contro le mosche, quantità di DDT tali da assicurare sulle superfici trattate g. 1,3 circa di insetticida per mq., in modo che anche dopo l'inattivazione dell'estere fosforico le superfici siano ancora capaci di uccidere gli Anofeli. Da tempo la preferenza è accordata alle paste emulsionabili in acqua che contengono il 75-85 % di sostanze attive e soltanto il 15-25% di diluenti e disperdenti. Pertanto il loro trasporto è più agevole ed economico, il che incide favorevolmente sul costo della lotta antianofelica.

Un insetticida che risponde alle caratteristiche richieste per la lotta abbinata è il Diazinone della Geigy (Neocid 99 al Diazinone in pasta che contiene il 10% di 0,0-dietil-0, (2-isopropil-4-metilpirimidil) 6-tiofosfato ed il 75% di DDT Tuttavia l'attività del Diazinone verso le mosche ha subito una diminuzione nelle zone in cui tale insetticida è stato ripetutamente impiegato negli anni passati. E' stata data, del resto, prova del costituirsi di popolazioni di *Musca domestica* resistenti a questo insetticida. Al riguardo, una prima segnalazione in Sicilia, ci venne dal Malariologo Provinciale di Siracusa. Egli ebbe a segnalare che dopo tre anni di trattamento integrale del comune di Rosolini con Diazinone la mortalità delle mosche di fronte a questo insetticida si era contratta (Terminello, 1956). Analoga segnalazione ci è pervenuta da parte del Malariologo Provinciale di Palermo (Oddo, 1957) per i comuni di Caccamo e di Corleone, anch'essi trattati per oltre un triennio con Neocid 99 al Diazinone. Il fenomeno è noto anche per altri paesi della Penisola (Saccà, 1957), nonchè per la Svizzera (Wiesmann, 1957), per la Danimarca (Keiding, 1956; Meltzer, 1956), ecc..

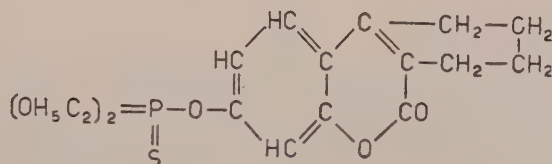
* * *

Nelle grandi città il problema ha maggiori possibilità di attacco, sia perchè non occorre abbinare la lotta antimosche e quella antianofelica, sia perchè le condizioni ambientali sono più favorevoli. In una precedente nota (Donzelli e Mariani, 1954) abbiamo dato resoconto dettagliato di un esperimento di lotta antimosche svolto nella città di Palermo.

C'è da chiedersi se, date le difficoltà che si incontrano nei centri rurali economicamente depressi per ottenere un abbassamento del livello numerico dell'infestazione e l'alto costo della lotta contro la *Musca domestica,* debba ritenersi utile insistere sulla opportunità della lotta stessa. Appare però evidente che perdurando la necessità della lotta antianofelica, il lieve aumento di costo determinato dalla lotta abbinata è pienamente giustificato, tenuto presente che una efficace lotta insetticida difende i centri abitati anche dai Flebotomi, dalle varie specie di Culicini e da altri insetti non vettori ma tuttavia di importanza igienico-sanitaria.

* * *

Nel 1957 l'allora Alto Commissario per l'Igiene e la Sanità incaricò il nostro Istituto di condurre esperimenti di laboratorio e sul campo con un nuovo insetticida, consistente in paste emulsionabili in acqua che contengono il 25% di un nuovo estere fosforico (0,0-dietil-tiofosfato della 7, ossi-3,4-tetrametilencumarina),



sintetizzato nei laboratori della Montecatini (Galbiati, 1956), il 55 % di DDT e il 20 % di diluenti e disperdenti.

Nella presente nota sono riferiti i dati degli esperimenti di lotta contro la *Musca domestica,* condotti mercè l'impiego di questo insetticida, sia in laboratorio che in campo pratico.

* * *

Gli esperimenti sono stati effetuati impiegando due differenti formule dell'insetticida e cioè:

1) DITION PASTA

0,0-dietil-tiofosfato della 7-ossi-3,4-tetrametilen-cumarina . .	25 %
DDT sinergizzato	55 %
Diluenti e disperdenti	20 %

2) DITION 18 PASTA

0,0-dietil-tiofosfato della 7-ossi-3,4-tetrametilen-cumarina . .	18 %
N-metilamide dell'acido 0,0-dimetilditiofosforil-acetico (*) . .	5%
DDT sinergizzato	54,5%
Diluenti e disperdenti	22,5%

Per brevità, nel corso di questo lavoro indicheremo i due insetticidi con i nomi: Dition e Dition 18.

Esperimenti di laboratorio

Come già in precedenti indagini i trattamenti con insetticidi dei centri abitati sono stati preceduti da saggi della sensibilità al DDT e agli insetticidi da impiegarsi su popolazioni di mosche catturate nelle località destinate alle operazioni di disinfestazione. Al tempo stesso si è ritenuto opportuno di controllare l'attività dell'insetticida, il che è stato fatto ricorrendo al nostro metodo tossicometrico (Mariani, 1954) a mezzo del quale viene determinato il tempo minimo di contatto con superfici trattate con l'insetticida, nelle dosi

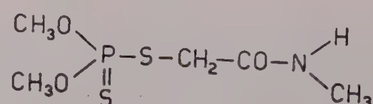
Tabella 1.

Sensibilità al DDT e TL_{100} media di fronte al Dition di mosche appartenti a vari ceppi e popolazioni.

Ceppo o popolazione di mosche	Sensibilità al DDT in % di mortalità dopo 10' di contatto (DDT gr. 2/mq)	Tempo minimo occorrente per l'uccisione del 100 % in tubi al Dition (pasta gr. 3/mq)	Osservazioni
Ceppo DDT-sensibile . . .	100	5'	in 3' mortalità 97,3%
Ceppo DDT-resistente (1) .	0	15'	—
Popolazione di Partinico . .	35	10'	—
» di Parrini . .	30	10'	—
» di Borgo Molara	28	10'	—

(1) Ceppo praticamente insensibile al DDT.

(*) Anche questo composto è stato sintetizzato dalla « Montecatini »; esso corrisponde alla formula:



ed è stato denominato « ROGOR ».



Fig. 1 — Settore di un quarto di griglia in funzione a Partinico (mercato della frutta).



Fig. 2 — Aspetto di un vicolo alla periferia di Partinico.



Fig. 3 — Una delle principali vie del villaggio Parrini.

prescritte dalle Industrie produttrici, necessario ad ottenere il 100 % di mortalità (TL_{100}).

Prove di attività dei due insetticidi (Dition e Dition 18) sono state eseguite anche su ceppi di mosche allevati in laboratorio ed in vario grado resistenti ad insetticidi clorurati.

Le prove sopra descritte sono state condotte su un sufficiente numero di individui ed i risultati corrispondenti alle medie di vari esperimenti sono esposti nelle tabelle 1 e 2, rispettivamente per il Dition e il Dition 18.

Analoghe prove con Dition 18 sono state estese anche ad un ceppo resistente sia al Dieldrin che al DDT. Questo ceppo dopo 4 ore di contatto con superfici trattate con 5 gr/mq di Dieldrin subisce una mortalità del 40 % e di fronte a 7 gr/mq di p,p'-DDT subisce una mortalità del 16 %.

TABELLA 2.

Sensibilità al DDT e TL_{100} media di fronte al Dition 18 di mosche appartenenti a vari ceppi o popolazioni.

Ceppo o popolazione di mosche	Sensibilità al DDT in % di mortalità dopo 10' di contatto (DDT g 2/mq)	Tempo minimo per l'uccisione del 100% in tubi al Dition 18 (pasta g 3/mq)	*Osservazioni*
Ceppo DDT-sensibile . . .	100	3'	—
Ceppo DDT-resistente . .	0	10'	a 7' mortalità 84%
Ceppo Dieldrin resistente . .	0	10'	a 5' mortalità 97%
Popolazione di Ventimiglia .	0	7'	—
Popolazione di Baucina . .	0	7'	—

La bassa tensione di vapore e la stabilità chimica dell'estere fosforico contenuto nei due Dition è stata confermata dalla immutata attività di carte da filtro trattate da oltre un anno. Saggi per valutare eventuali fenomeni di repellenza, eseguiti impiegando un adattamento del metodo DE ZULUETA (1958), su cui sarà riferito più estesamente in altra nota, hanno mostrato che le superfici trattate con i due Dition non sono repellenti per le mosche.

ESPERIMENTI DI LOTTA ANTIMOSCHE SUL CAMPO CON DITION

Per queste prove abbiamo scelto il comune di Partinico, il villaggio Parrini, prossimo a Partinico ma da esso isolato, e Borgo Molara (frazione del comune di Palermo).

Il comune di Partinico è un grosso centro di circa 35.000 abitanti: è alta-

mente infestato da *Musca domestica* e già negli anni passati abbiamo condotto in esso campagne di demuscazione.

L'esperimento di demuscazione con Dition è stato attuato con un trattamento di tipo parziale più avanti descritto.

Il villaggio Parrini è stato destinato, invece, ad un trattamento integrale di confronto. Il Borgo Molara, frazione isolata della città di Palermo è stato trattato pure totalmente.

Al fine di avere ragguagli sull'andamento stagionale delle popolazioni di mosche è stata tenuta in osservazione un'altra frazione isolata del comune di Partinico, in pari grado infestata e non sottoposta a trattamenti insetticidi (Scalo ferroviario).

In tutti gli esperimenti la densità di mosche è stata misurata con il metodo delle griglie (Scudder, 1947) e con il metodo delle carte moschicide.

Il primo procedimento serve a determinare la densità di mosche per mq. di superficie ed è stato impiegato da noi in vari esperimenti (D'Alessandro, Cefalù e Mariani, 1954). Le conte sono state eseguite, sia a mezzo di griglie quadrate aventi un metro di lato e divise in quattro settori, sia con singoli settori di un quarto di griglia; queste ultime sono più agevolmente spostabili e permettono la conta ad un singolo osservatore per volta (vedi fig. 1) con risultati paragonabili a quelli ottenuti con le griglie convenzionali di 1 metro.

Il metodo delle carte moschicide permette di determinare la densità media per abitazione, attraverso la conta di mosche rimaste impigliate sulle carte stesse, esposte sempre nei medesimi luoghi, nelle stesse ore del giorno e per un periodo di tempo costante.

Gli esperimenti ebbero inizio il 15 giugno 1957 a Partinico ed a Parrini; il 2 luglio a Borgo Molara.

Le prime operazioni sono consistite nella determinazione della densità media delle popolazioni muscine prima del trattamento e nel prelievo di mosche per i saggi di sensibilità agli insetticidi, più sopra descritti.

Sono stati impiegati per i trattamenti Kg. 1060 di Dition: così ripartiti:

1) Kg. 36 per il trattamento totalitario del villaggio rurale denominato Parrini, in condizioni igieniche molto deficienti e isolato per un raggio di oltre 6 Km. da ogni altro centro abitato;

2) Kg. 960 per il trattamento parziale del comune di Partinico, seguendo lo schema descritto per l'esperimento di lotta eseguito nella città di Palermo (l.c.). Il trattamento è stato infatti, limitato ad una larga fascia periferica e ad alcuni quartieri e fabbricati più esposti all'infestazione (Mercato del pesce, mercato della frutta, quartieri popolari molto densamente abitati, ecc.);

3) Kg. 60 per il trattamento di Borgo Molara: una borgata del comune di Palermo sufficientemente isolata.

Le densità medie rilevate con i due metodi, nelle varie zone, prima dei trattamenti, sono state le seguenti:

Borgo Molara	griglie	68/mq
	carte moschicide esposte per 8 ore	339 p. amb.
Partinico (Scalo ferr.)	griglie	80/mq
	carte moschicide esposte per 8 ore	402 p. amb.
Parrini	griglie	81/mq
	carte moschicide esposte per 3 ore	238 p. amb.
Partinico Città	griglie	52/mq
	carte moschicide esposte per 2 ore	81 p. amb.

Il grafico (fig. 4), mostra l'andamento settimanale delle popolazioni di *Musca domestica* nelle zone di Partinico città, Partinico Scalo ferroviario e Parrini, determinata a mezzo di conte su griglie.

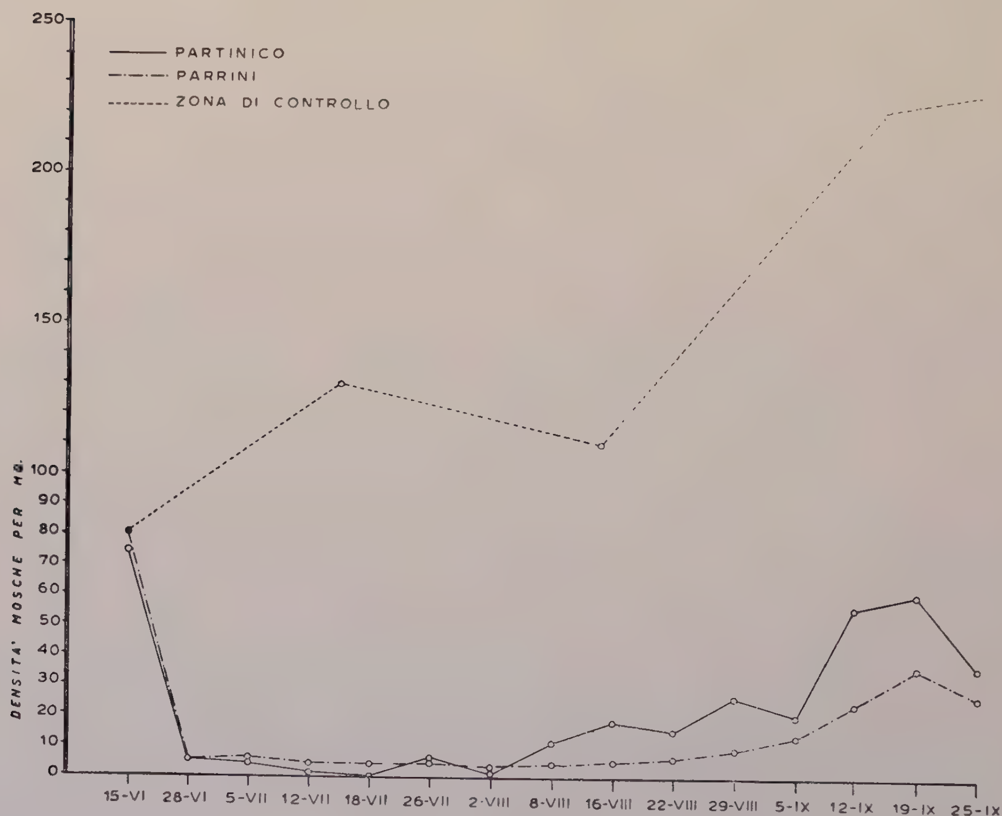


Fig. 4 — Andamento della densità media per m^2 di *Musca domestica*, a Partinico, Parrini e nella zona di controllo (scalo ferroviaro), rilevata a mezzo griglie.

Il grafico (fig. 5) mostra l'andamento delle temperature massime e minime rilevate a Partinico nel periodo degli esperimenti.

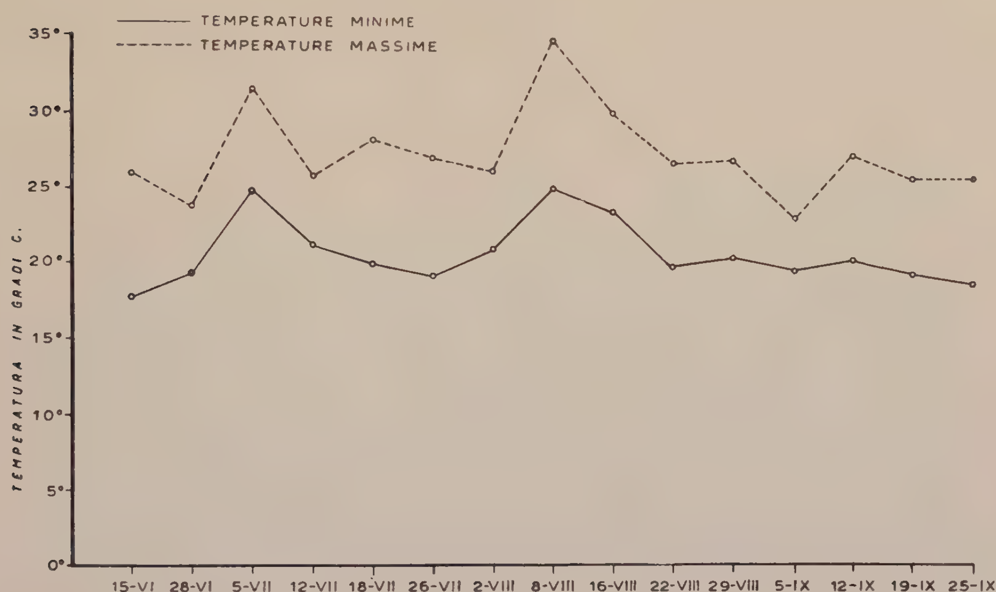


Fig. 5 — Temperature massime e minime rilevate nell'abitato di Partinico nel periodo degli esperimenti.

Nella tabella 3, sono esposti i dati ottenuti con griglie e quelli con carte moschicide a Partinico.

TABELLA 3.

Dati desunti dai rilievi settimanali della densità di Musca domestica *nell'abitato di Partinico prima e dopo il trattamento insetticida.*

	Conta con le carte moschicide		Conta su griglie	
	Mosche per ambiente	Riduzione ottenuta (%)	Mosche per mq.	Riduzione % ottenuta
Prima del trattamento	370	—	74	—
Densità media nelle 14 settimane successive al trattamento	37	90	19	74

L'entità della riduzione della densità delle popolazioni di *Musca domestica* appare senz'altro significativa, tanto più ove si consideri che la densità stessa era in continuo incremento, come risulta dal grafico (fig. 4) nel quale sono

riportati i dati della zona di controllo. Va anche rilevata la diversa risposta tra i due metodi di valutazione della densità delle mosche.

I dati relativi alla campagna di demuscazione condotta a Borgo Molara sono riferiti nella tabella 4, nella quale sono riportati i rilievi settimanali. Anche in questo caso nella valutazione della riduzione operata dall'insetticida va tenuto conto dell'incremento stagionale.

TABELLA 4.

Rilievi settimanali della densità di Musca domestica *nell'abitato di Molara, prima e dopo il trattamento insetticida.*

Tempo trascorso dal trattamento	Conta con le carte moschicide		Conta su griglie	
	Mosche per ambiente	Riduzione ottenuta (%)	Mosche per mq.	Riduzione % ottenuta
Prima del trattamento	81	0	52	0
1ª settimana	13	84	3	94
2ª »	18	78	5	90
3ª »	13	84	2	96
4ª »	23	72	3	94
5ª »	13	84	4	92
6ª »	17	79	8	85
7ª »	21	74	31	40
8ª »	20	76	27	48
9ª »	22	74	36	31
10ª »	27	67	41	20
11ª »	27	67	21	66
Medie		76		68

Sono stati eseguiti, inoltre, alcuni saggi diretti a valutare l'attività residua del Dition sulle superfici trattate, a distanza di 60 giorni dal trattamento. Le prove sono state effettuate, su mosche catturate nella località stessa, a mezzo di camere metalliche di esposizione. Tali camere, di forma circolare, del diametro di cm. 12 e dell'altezza di cm. 1 sono coperte da reticella metallica e vengono fissate con la faccia libera sulla superficie muraria.

Una esposizione corrispondente ad un contatto di 15' produsse una mortalità media del 90 %.



Fig. 6 — Veduta parziale del comune di Baucina.



Fig. 7 — Veduta panoramica del comune di Ventimiglia di Sicilia.

Esperimenti sul campo con il preparato denominato Dition 18

I risultati delle prove di laboratorio eseguite su Dition 18, già riferite, ci hanno indotto ad effettuare prove sul campo. Il preparato fu disponibile soltanto alla fine di agosto 1958 ed abbiamo colto l'occasione per effettuare un esperimento di lotta autunnale. Abbiamo scelto i due comuni: Baucina e Ventimiglia di Sicilia, distanti fra loro circa 5 Km. e situati ad altitudini simili (rispettivamente m. 452 e 540 s. l. m.).

Il comune di Baucina ha 4.000 abitanti e quello di Ventimiglia di Sicilia 5.000; entrambi vivono di agricoltura e le condizioni ambientali ed igieniche sono quelle precedentemente descritte. Le colture sono in prevalenza costituite da terreni da semina nei quali si alternano il frumento, le fave e le erbe da foraggio, soprattutto la Sulla (*Hedisarum coronarium*); ma sono anche frequenti i vigneti, gli oliveti ed i mandorleti.

Il primo comune è stato scelto per il trattamento sperimentale, il secondo come controllo. E' da tenersi presente che i due paesi vengono annualmente trattati con DDT per la lotta antianofelica.

Gli esperimenti preliminari e le modalità di rilievo della densità delle popolazioni muscine è stata fatta con i sistemi già descritti per Partinico e Parrini. Data però l'alta incidenza stagionale della *Fannia canicularis* si è data la preferenza alle carte moschicide che permettono una discriminazione fra questa specie e la *Musca domestica*.

La densità di *Musca domestica* nei due comuni fu calcolata in 70 mosche per ambiente a Baucina e 87 mosche per ambiente a Ventimiglia di Sicilia. Il trattamento ebbe inizio il 17 di ottobre e l'andamento della densità delle popolazione di *Musca domestica* nei due comuni è mostrata dal grafico (fig. 8).

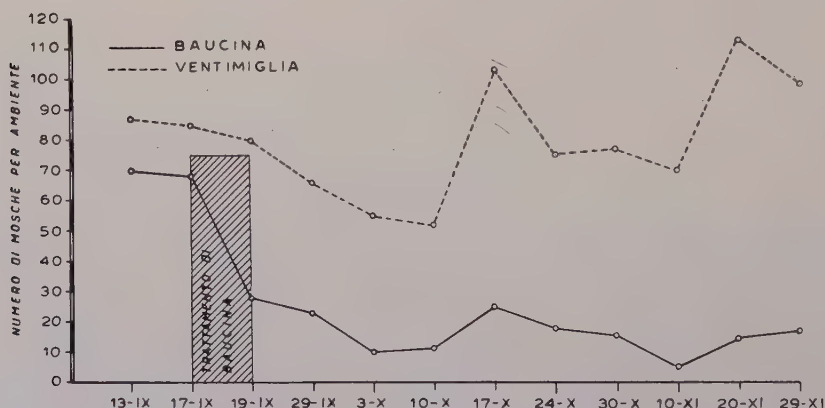


Fig. 8 — Andamento della densità media per ambiente di *Musca domestica*, a Baucina ed a Ventimiglia di Sicilia, rilevata a mezzo di carte moschicide.

Il grafico (fig. 9) mostra l'andamento delle temperature massime e minime rilevate nei due comuni durante l'esperimento.

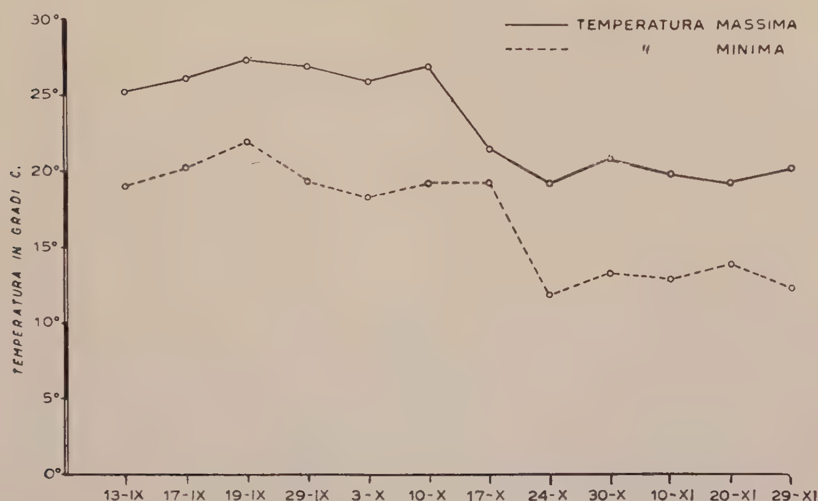


Fig. 9 — Temperature massime e minime rilevate nell'abitato di Baucina nel periodo degli esperimenti.

Durante i rilievi settimanali nella zona trattata e in quella di controllo è venuto in luce un fatto di un certo interesse. Il rapporto numerico fra *Fannia canicularis* e *Musca domestica*, nel periodo fra il 15 ottobre ed il 15 novembre ha subito un improvviso cambiamento: da circa il 20 %, in entrambi i paesi, è sceso al 5 % a Ventimiglia (zona non trattata) ed è salito al 40 % a Baucina (zona trattata). Sembra chiaro che nei focolai larvali di Baucina, venuta meno la concorrenza delle larve di *Musca domestica*, la *Fannia canicularis* ha avuto modo di svilupparsi in maggior numero che a Ventimiglia.

Due controlli eseguiti rispettivamente il 30 gennaio ed il 2 febbraio 1959, dopo oltre 4 mesi dal trattamento, nei due comuni, hanno permesso di constatare che, mentre a Ventimiglia era possibile contare 2 mosche per mq, a Baucina non si rinvenivano mosche.

In un giorno dello stesso febbraio, servendoci di un ceppo di mosche a resistenza media agli insetticidi clorurati, allevato in laboratorio, abbiamo eseguito saggi sull'attività dei muri trattati. Il ceppo di mosche prescelto per le prove è stato preventivamente e gradualmente adattato alla temperatura di 10°C. Durante gli esperimenti la temperatura nell'interno delle abitazioni di Baucina oscillò fra i 10 e i 12°C. La mortalità media di mosche costretta al contatto con le superfici trattate è esposta nella seguente tabella.

TABELLA 5.

Mortalità media di mosche medio-resistenti, calcolata dopo 24 ore e corretta con la formula di Abbot, rispetto alla mortalità dei controlli, dopo vari tempi di contatto con superfici trattate con Dition 18, quattro mesi e mezzo prima dell'esperimento.

Tempo di contatto con le superfici trattate « con Dition 18 »	Mortalità percentuale dopo 24 ore dell'esperimento (%)
5'	53
10'	80
15'	88
30'	100

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

I dati ottenuti dagli esperimenti riferiti nella presente nota permettono di trarre alcune deduzioni sul valore di campagne di demuscazione condotte in centri che, in rapporto alle condizioni socio-economiche ed ambientali, presentano un alto grado di infestazione.

Occorre sottolineare, in primo luogo, che trattamenti di tipo parziale, ma, ovviamente, condotti secondo un piano coordinato in rapporto alle maggiori sorgenti di infestazione, quale è stato il caso di Partinico, sortiscono effetti, quanto a riduzione della popolazione muscina e durata di tale effetto, non dissimili da quelli ottenuti a mezzo di trattamento di tipo totalitario, come realizzato nei centri abitati di minore estensione quali Borgo Molara e Parrini, sempre che si disponga di insetticidi efficaci come nel caso in esame. Le ripercussioni di tale constatazione sul piano economico appaiono ovvie.

Nella valutazione dei buoni servizi resi dai due Dition deve essere tenuto presente che nel caso di Partinico la popolazione di *Musca domestica* era in possesso di una modesta resistenza ad insetticidi organo-fosforici, riportabile certamente a ripetuti ed estesi trattamenti condotti in quel centro abitato, negli anni precedenti, con Diazinone. Ciò è in armonia con quanto a tale proposito è stato affermato in un recente rapporto del Comitato di Esperti sugli insetticidi dell'O.M.S. (1958), circa la possibilità di impiegare il Dition per la lotta contro le mosche resistenti al Diazinone.

Appare evidente inoltre, sulla scorta dei dati rilevati nell'abitato di Baucina, che ove si manifesti un abbondante sviluppo numerico di *Fannia*

canicularis, specie che in rapporto alla sua particolare ecologia ben poco risente del trattamento delle superfici murarie con insetticidi ad azione residua, sia necessaria l'adozione di insetticidi di spazio.

Le presenti indagini ci permettono anche di valutare i risultati di un trattamento autunnale. Essi sembrano buoni nel loro insieme e raffrontabili con quelli ottenuti ad opera di un trattamento estivo, benchè sia da tenere presente, al riguardo, il differente incremento della densità muscina in condizioni non influenzate da trattamenti insetticidi rispettivamente nelle due stagioni. Poichè le superfici murarie trattate in settembre dimostrarono di conservare, ai saggi eseguiti nel febbraio scorso, inalterata attività residua, potrà essere di qualche interesse seguire l'andamento della popolazione muscina nei prossimi mesi.

Per ciò che si riferisce agli aspetti metodologici, va osservato che, ai fini del calcolo di riduzione media della densità di mosche, il procedimento di conteggio a mezzo di griglie fornisce risultati paragonabili a quelli delle carte moschicide, con uno scarto a favore del primo metodo di circa il 10 %.

THE USE OF A NEW ORGANO-PHOSPHOROUS INSECTICIDE IN THE CAMPAIGN AGAINST THE HOUSE FLY.

The results are reported of experiments carried out in the laboratory and in the field on the use of a new organo-phosphorus insectide (Dition) in the campaign against the house fly.

The average density of flies before and after the treatment was measured by the grid method of Scudder and with the fly-paper method (1). The first method determines the density of flies per sq.mt.; the fly-paper method on the other and gives the average density of flies in the surroundings. In the calculation of the percentage reduction of the fly population produced by treatments, the difference between the two methods lies about an error of 10%.

It was shown that partial treatments designed to involve the main sources of infestation and a large peripheral band about the houses were as effective as total treatments. In fact both at Partinico — a partially treated zone — and at Villaggio Parrini — totally treated there was an average diminution of 90% with respect to untreated control zones, during the 14 successive weeks of treatment.

The efficacy of Dition was also shown in respect of populations of *Musca domestica* which already had a modest level of resistance to other phosphoric esters, and by a duration of activity, shown by biological tests, of more than 4 months.

The abnormal increase of *Fannia canicularis* shown at Baucina during an experiment in the autumnal campaign is also reported. The opportunity was taken to overcome the *Fannia* with spatial insecticides (synergised pyrethrum).

Finally the first results and the outlook for an autumnal insecticidal treatment in the campaign against the house fly are described.

BIBLIOGRAFIA

D'Alessandro G., Cefalù M. e Mariani M. (1954): La lotta antimalarica e contro gli insetti domestici in Sicilia dopo sette anni dall'avvento del DDT e degli altri insetticidi clorurati. *Atti del 1° Convegno interregionale e Symposium internazionale di patologia infettiva, Messina,* 19-20 *agosto.*

Donzelli F. e Mariani M. (1954): Risultati di un primo esperimento di lotta antimosche nella città di Palermo. *Igiene e Sanità Pubblica, 10,* 159-171.

Galbiati F. (1956): Il « Dition » nuovo insetticida per uso civile. *Riv. Malariologia, 35,* 59-71.

Keiding J. (1956): Resistance to organic phosphorus insecticides of the housefly. *Science, 123,* 1173.

Mariani M. e Valguarnera G. (1950): Tossicometria delle sostanze insetticide. *Mem. Soc. Ent. Ital., 29,* 5-18.

Mariani M. (1954): Ancora sui procedimenti tossicometrici per la valutazione biologica degli insetticidi. *Boll. Soc. Ent. Ital., 84,* 67-71.

Mariani M. (1956): Sulla sensibilità dell'*Anopheles labranchiae* al DDT dopo sette anni di lotta antianofelica con insetticidi clorurati in Sicilia. *Riv. Parass., 18,* 171-177.

Mariani M. (1959): Ulteriori ricerche sulla sensibilità dell'*A. labranchiae* di Sicilia al DDT. (In corso di stampa su questa Rivista).

Meltzer J. (1956): Multiresistance in the housefly, *Musca domestica,* induced by selection. *Mededelingen Landbouv. Opzoekingsst. Staat Gen. Jaarg., 21,* 459.

Oddo F. (1957): Relazione non pubblicata.

O. M. S. (1958): Resistance des insectes et lutte contre les vecteurs. Huitiême rapport du Comité d'experts des insecticides, *Serie de Rapports techniques, 153,* 23.

Saccà G. (1957): La resistenza di *Musca domestica* agli esteri fosforici in Provincia di Latina. *Riv. Parass., 18,* 289.

Scudder H. J. (1947): A new technique for sampling the density of housefly populations. *Publ. Health Rep., 62,* 681-686.

Terminello L. (1956): Relazione non pubblicata.

Wiesmann R. (1957): Inf. Circ. on the res. probl., World Health Organisation, n. 8. Division of Environmental Sanitation.

Zulueta (de) J. (1958): Report of entomological mission in the european region. Circ. Mimeogr. O.M.S./A.S./130, 58, p. 37.

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XX - N. 2 - Giugno 1959

NOTE E OSSERVAZIONI

TRYPANOSOMA ROTATORIUM NEL SANGUE DI *RANA ESCULENTA* E *HYLA ARBOREA* DEI DINTORNI DI MILANO

I. DE CARNERI (*)

Ho avuto recentemente occasione di esaminare il sangue di alcuni esemplari degli anuri *Rana esculenta* L. (Fam. *Ranidae*) e *Hyla arborea* L. (Fam. *Hylidae*), raccolti tra la fine di marzo e l'inizio di aprile a Moncucco, tra Milano e Pavia, a circa 25 Km. dalla capitale lombarda. Questa ricerca fu iniziata nella speranza di trovare modelli biologici indigeni, utilizzabili per studi di chemioterapia di malattie tropicali: in particolare speravo di mettere in evidenza parassitosi da *Icosiella neglecta* (Diesing 1851) Seurat 1917, filaria i cui adulti sono localizzati nei tessuti connettivi sottocutanei e intermuscolari e le cui microfilarie si ritrovano nel sangue periferico, cardiaco ed epatico delle rane. MINNING e PAO-CHUAN DING (1951) hanno dimostrato che questi nematodi, presenti in 40 su 200 esemplari di *Rana esculenta* raccolti dei dintorni di Francoforte a. M., possono prestarsi per la ricerca di farmaci antifilariasici, visto che le loro microfilarie e forse anche i vermi adulti sono sensibili allo Hetrazan.

La nostra rcerca non ha dato sotto questo aspetto alcun risultato, poichè nessuno degli 80 anfibi delle due specie esaminate aveva microfilarie nel sangue cardiaco. Tuttavia in entrambe le specie ha riscontrato un fortissimo indice di parassitosi da *Trypanosoma rotatorium* Mayer 1843, grosso flagellato caratterizzato da uno spiccato polimorfismo, che è stato segnalato nel sangue di varie specie di rane (vedi RUIZ e ALFARO 1958) e con cui, secondo REICHENOW (1953 pp. 557-559), si identificano altri tripanosomi osservati da vari autori in numerosi altri anuri e spesso erroneamente considerati specie indipendenti.

Le rane dei dintorni di Milano vengono utilizzate per prove fisiologiche e farmacologiche; credo perciò utile pubblicare notizie sui loro parassiti, la cui presenza potrebbe in qualche modo influenzare le risposte di questi anfibi nelle varie esperienze di laboratorio.

Il metodo di indagine usato ed i risultati ottenuti sono stati i seguenti.

Quaranta esemplari adulti di *Rana esculenta* ed altrettanti di *Hyla arborea* furono anestetizzati con vapori di etere etilico. Si procedette all'apertura del torace, si sollevò il cuore con una pinza, i vasi sanguigni furono recisi con una forbice ad una certa distanza dalla base del cuore mentre questo era in diastole, onde raccogliere la maggior quantità possibile di sangue. Il cuore veniva quindi rapidamente

---

(*) *Istituto Carlo Erba per Ricerche Terapeutiche - Milano.*

appoggiato ad un vetrino porta oggetti in corrispondenza ad una goccia di soluzione fisiologica e quindi veniva spremuto su un secondo vetrino in corrispondenza ad un'altra goccia della soluzione. In tal modo sui due vetrini si riesce a recuperare un totale di circa 0,1 ml. di sangue, che va disperso nella soluzione fisiologica, coperto con vetrini coprioggetti da 24 × 24 mm. ed esaminato al microscopio a 125 e 500 ingrandimenti, operando rapidamente perchè il sangue di questi anuri coagula quasi immediatamente.

Si osservò così che 40 raganelle (*Hyla arborea*) su 40 esaminate (=100%) e 32 rane (*Rana esculenta*) su 40 esaminate (=80%) avevano tripanosomi nel sangue. I tripanosomi erano generalmente più numerosi nel sangue delle raganelle che non nel sangue di *Rana esculenta*.

L'aspetto dei flagellati, esaminati a fresco e dopo colorazione con Giemsa, corrispondeva a quello attribuito dai suddetti autori e da Kudo (1954, p. 352) a *Trypanosoma rotatorium*. Le caratteristiche più evidenti sono: innanzi tutto il tipico movimento della larga membrana ondulante, cui è dovuto il nome specifico del protozoo; il particolare sviluppo che talvolta assume la parte libera del flagello; il corpo tozzo, lungo circa 35 μ, ricoperto da una pellicola striata longitudinalmente.

Partendo dal sangue di 10 esemplari di *Rana esculenta* (8 dei quali erano risultati postivi all'esame diretto, 2 negativi) si allestirono delle culture in provette da batteriologia contenenti terreno bifasico di Davis (vedi Craig 1958, p. 215). Due esami microscopici eseguiti dopo 6 e 10 giorni di incubazione a t.a. (18-24°C) rivelarono la presenza di crithidie in 7 casi. Tre culture risultarono negative: 2 di queste ultime corrispondevano ai 2 casi negativi all'esame diretto.

Summary. — Out of 40 adults of *Rana esculenta* and 40 *Hyla arborea*, collected in the neighbourhood of Milan, none appeared to be infected by the filaria *Icosiella neglecta*. 80% frogs of the first species and 100% of the second were found to be infected with *Trypanosoma rotatorium*.

BIBLIOGRAFIA

Craig C. F. (1948): *Laboratory Diagnosis of Protozoan Diseases*, 2ª ed., Londra.

Kudo R. R. (1954): *Protozoology*, 4ª ed., Springfield, U.S.A.

Minning W., Pao-Chuan Ding (1951): Hetrazan-Wirkung bei Frosch-Filariasis (*Icosiella neglecta*), *Z. Tropenmed. u. Parasitol.*, *2*, 535-543.

Reichenow E., in: Doflein F.+, Reichenow E. (1953): Lehrbuch der Protozoenkunde, 6ª ed., Jena.

Ruiz A., Alfaro M. (1958): Presencia de *Trypanosoma rotatorium* en la sangre de ranas de Costa Rica, *Rev. Biol. Trop.*, *6*, 241-244.

« DI-(P-CHLOROPHENYL) COMPOUNDS » AND OVIPOSITION IN THE HOUSEFLY.

K. R. S. ASCHER (*)

Recently MORRISON and HAGLEY (1) published a report on the effects obtained by incorporation of several DDT-synergists, (all of them « di-(*p*-chlorophenyl) compounds »), namely di-(*p*-chlorophenyl)-chloromethane, di-(*p*-chlorophenyl)-methylcarbinol (DMC) and di-(*p*-chlorophenyl)-ethylcarbinol, into the breeding medium of housefly larvae; they also investigated the fecundity of the resultant adults. Their findings prompt us to publish some negative results with a series of similar compounds, which were obtained in a series of experiments carried out in 1957.

In course of previous work on the O.I.T.C.-agents (**) di-(*p*-chlorophenyl)-trifluoromethylcarbinol and di-(*p*-chlorophenyl)-pentafluoroethylcarbinol (2) it had been ascertained that DMC and di-(*p*-chlorophenyl)-dichloromethylcarbinol were completely inactive and a sample of di-(*p*-chlorophenyl)-trichloromethylcarbinol (DTMC, obtained from S. REUTER) nearly inactive as inhibitors of oviposition in the housefly. In order to establish, whether O.I.T.C.-activity in « di-(*p*-chlorophenyl) compounds » is restricted to the two fluorocarbinols mentioned above, the following compounds kindly put at our disposal in 1957 by the J. R. Geigy Co., Basle (I, II, III) and by Dr. R. L. METCALF, Citrus Experiment Station, Riverside, California (IV, V) were tested with the continuous exposure method in cages (filter papers impregnated with 2 g/sq.m. of substance hung into centre of cages) following, except as to concentration, procedure 5 in (2).

No.	*Substance*	*Common name*
I	*p,p'*-dichlorobenzilic acid, ethyl ester	chlorobenzilate
II	*p,p'*-dichlorobenzilic acid, propyl ester	chloropropylate
III	di-(*p*-chlorophenyl)-ethoxymethylcarbinol	etoxinol
IV	di-(*p*-chlorophenyl)-vinylcarbinol	
V	di-(*p*-chlorophenyl)-ethynylcarbinol	

All these substances were completely inactive as O.I.T.C.-agents for the highly DDT-resistant K_1 strain of *Musca domestica* L.

In view of the discrepancy in melting points between the sample of DTMC (104°-105°, obtained from S. REUTER, cf. also (3)), used in the previous work (2), and the material investigated by GUNTHER, BLINN and METCALF (4) - namely 78,5°-79,5° (see also (5) and reference 3 in (5)), new samples of DTMC and di-(*p*-chlorophenyl)-dichloromethylcarbinol, obtained also through the courtesy of Dr. METCALF, were retested and also found to be inactive as O.I.T.C.-agents.

It seems thus indeed, that O.I.T.C.-activity to houseflies in « di-(*p*-chlorophenyl) compounds » is limited so far to carbinols in which the group $-CF_3$ or

---

(*) *Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Parassitologia, Roma.*

(**) Oviposition-inhibiting tarsal contact agents.

$-C_2F_5$, and to a much lesser extent $-C_3F_7$ (2), is a ligand of the central carbon atom. In mosquitos only di-(*p*-chlorophenyl)-trifluoromethylcarbinol has been tested (6). Though the mode of action of these compounds as O.I.T.C.-agents is still obscure, the unusual stability of the fluorocarbinols in the fly's body is probably of importance. Thus in houseflies presence of di-(*p*-chlorophenyl) trifluoromethylcarbinol has been demostrated for 6 days after administration of a single, minute dose (7), while e.g. DMC is metabolized rapidly (8).

The two fluorocarbinols act on continuous tarsal contact with adult females fed daily with milk. On exposing third stage larvae to filter paper (9) impregnated with 0,5 g/sq.m. and 1 g/sq.m. of di-(*p*-chlorophenyl)-trifluoromethylcarbinol, no inhibition of oviposition was noted in the adults resulting from survivors of the treatment. Thus even if Morrison and Hagley's compounds would have had O.I.T.C.-activity in the adult housefly, which one of them (DMC) certainly does not possess (2) and the other two most probably neither, the mode of administration, viz. incorporation into larval media, would not have put it into evidence. Moreover, examination of Morrison and Hagley's data, (1) table 5, reveals that when the adult stage is reached the substances have already been metabolized, since DDT which was topically applied to adults was no longer synergized.

Riassunto. — E' stata saggiata l'influenza di altri « composti del gruppo di-*p*-clorofenile » sulla ovodeposizione di *Musca domestica*, e si è visto che essi non la inibiscono. L'A. ritiene pertanto che l'inibizione si ottenga solo quando nei carbinoli di di-*p*-clorofenile sia presente il fluoro.

BIBLIOGRAPHY

(1) Morrison F. O. and Hagley E. A., J. Econ. Ent. *52*, 61 (1959).
(2) Ascher K. R. S., Science *125*, 938 (1957).
(3) Reuter S. and Ascher K. R. S., Experientia *12*, 316 (1956).
(4) Gunther F. A. *et al.*, J. Agric. Food Chem. *4*, 338 (1956).
(5) Bergmann E. D. and Kaluszyner A., J. Org. Chem. *23*, 1306 (1958).
(6) Ascher K. R. S., Riv. Malar. 36, 209 (1957).
(7) Cohen S. and Tahori A. S., J. Agric. Food Chem. *5*, 519 (1957).
(8) Perry A. S. *et. al.*, Biol. Bull. *104*, 426 (1953).
(9) Ascher K. R. S. and Levinson Z. H., Riv. Parassit. *15*, 57 (1954).

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XX - N. 2 - Giugno 1959

RECENSIONI

BELDING D. L.: *Basic Clinical Parasitology*, pp. X + 469, figg. 118. Appleton-Century-Crofts Inc., New York 1958, doll. 9.

Questo libro rappresenta sostanzialmente un condensato della maggior opera dell'A., il ben noto *Textbook of Clinical Parasitology*, nel senso che in esso è stata operata una scelta di tutti i più essenziali elementi pertinenti ad ogni argomento della parassitologia medica, onde dare di questi un quadro sintetico ma completo. In tale scelta molte parti sono state direttamente riportate dal suddetto maggiore testo, altre sono invece di nuova stesura o profondamente rielaborate in vista dei necessari aggiornamenti in base alle acquisizioni avutesi fino ai tempi più recenti. Ne è risultata un'opera schematica, agile: la successione degli argomenti è rapida, i dati sono spesso riferiti in forma telegrafica. La morfologia e la biologia dei parassiti sono ridotte la prima a quei soli caratteri effettivamente essenziali per la diagnosi, la seconda a quanto soprattutto interessa la profilassi; più ampio spazio è di norma dedicato, come logico dato il titolo del libro, alla parte medica: patogenesi, prognosi, diagnosi, immunità, epidemiologia, profilassi, ecc., sono oggetto di singoli paragrafi nella trattazione di ogni parassita; per la terapia si rinvia invece sempre all'apposito capitolo, l'ultimo, che raccoglie oltre ai trattamenti delle varie parassitosi, anche dati sulle più usate sostanze antiparassitarie e sugli insetticidi e repellenti. Molti altri richiami risparmiano nel testo possibili ripetizioni; numerose tabelle condensano spesso serie di nozioni affini, quadri di caratteri differenziali ecc..

L'opera consta di 20 capitoli ripartiti in sette parti: Parassitologia generale (1), Protozoi (2-4), Nematelminti (5-7), Cestodi (8-10), Trematodi (11-13), Artropodi (14-17), Metodi tecnici per la diagnosi ed il trattamento delle malattie parassitarie (18-20). Il primo capitolo di ogni parte sistematica è dedicato agli aspetti generali del gruppo; gli altri alla rassegna delle singole specie, ripartite a seconda della sede: p. es. il cap. 5 dà i caratteri generali dei Nematodi, il 6° tratta dei Nematodi intestinali, ed il 7° di quelli ematici e tissulari.

L'esposizione è chiara; e ciò, unitamente alle su ricordate doti di sinteticità e completezza fa certo di questo libro un'opera di informazione rapida ed esauriente di molta utilità sia per il medico pratico che per lo studente della materia.

Quasi sempre piuttosto buona l'iconografia, anch'essa in massima parte ripresa dal *Textbook of Clinical Parasitology*. Più che decorosa la veste editoriale.

M. RICCI

GRUMBACH A. e KIKUTH W.: *Die Infectionskrankheiten des Menschen und ihre Erreger*, 2 voll. in 8°, XXXII + 1702 pp., 56 figg., Georg Thieme Verlag, Stoccarda 1958. D.M. 198.

L'opera è frutto della collaborazione di un gruppo di specialisti: R. E. BADER, T. BENEDEK, S. GARD, A. GRUMBACH, W. KIKUTH, J. KIMMING, P. KLEIN, J. LIN-

DENMANN, W. MINNING, H. MOOSER, E. G. NAUCK, G. PIEKARSKI, G. ROEMER, H. SCHMIDT, H. VOGEL, F. WEYER, E. WIESMANN, sotto la direzione di A. GRUMBACH e W. KIKUTH. Vi è una parte generale la cui trattazione occupa ben 412 pagine, dense di dati e ricche di bibliografia. Sarebbe troppo lungo enumerare tutti i capitoli in essa sviluppati e mi sembra di dovere ricordare solamente quelli di maggiore importanza: così il capitolo sui rapporti fra ospite e parassita, con speciale riguardo alla virulenza e ai fattori di virulenza; quello sui diversi agenti causali — i batteri, le rickettsie, i virus, i funghi, i protozoi e gli elminti — di ogni gruppo dei quali vi è un'ampia descrizione, completa oltrechè moderna; i capitoli sulla epidemiologia generale e sulla immunità attiva e passiva, trattate separatamente per i virus e per i batteri; quello sulla chemioterapia e quelli sui mezzi di disinfezione, sterilizzazione e disinfestazione, questo particolarmente aggiornato sul problema degli insetticidi e della resistenza che insorge negli insetti con il loro uso. Chiude la parte generale un breve capitolo sulla tassonomia, specie quella batterica e dei funghi.

Vi è poi la parte speciale che completa il primo volume e occupa tutto il secondo. Ogni malattia è descritta secondo uno schema presso a poco identico, così che si conserva una notevole uniformità malgrado la diversità degli Autori: dopo una definizione del morbo, vi è una schematica trattazione del quadro o dei quadri clinici, mentre invece una estesa considerazione è dedicata soprattutto alla eziologia, con precise, ampie descrizioni dei singoli agenti eziologici, delle loro caratteristiche colturali, serologiche, antigeniche, di virulenza, e poi alla patogenesi, alla epidemiologia, alla diagnosi, alla terapia ed alla profilassi.

E in questo modo alle malattie causate da batteri, che sono quelle più diffusamente considerate e cui è dato il maggiore risalto, seguono quelle da rickettsie, quelle da virus cui è dato uno sviluppo minore, ad eccezione delle più note come il vaiolo, l'influenza, la poliomielite, l'epatite epidemica. Vengono poi le micosi, con breve descrizione alla fine del capitoli della tecnica per la ricerca del fungo, le protozoosi, fra cui occupano una parte speciale la malaria e la dissenteria amebica, ed infine le elmintiasi. Per ogni malattia vi è una bibliografia ampia e sufficientemente aggiornata.

Scorrendo i due volumi, ci si fa rapidamente un'idea della ricchezza di materiale raccolto in queste pagine. Basterebbero, del resto, alcuni fra i nomi dei Collaboratori, a valorizzare già di per sè un'opera che merita veramente di essere segnalata.

Se un appunto si può fare, è che gli Autori avrebbero forse potuto essere più generosi di grafici, figure, riproduzioni fotografiche.

I. ARCHETTI

GRUNKE V.: *Klinik der einheimischen Infektionskrankheiten*. XIX + 620 pp., 177 figg., in parte a colori. G. Thieme, Leipzig 1956, DM 51, 60.

Come scrive lo stesso Autore nella breve introduzione al suo libro, il volume è indirizzato al clinico ed al medico pratico, con lo scopo di fornirgli quelle nozioni antiche e recenti sulle malattie infettive nostrane, che o sono trattate troppo diffusamente nelle opere specialistiche oppure troppo compendiosamente nei libri in prevalenza orientativi.

Da questa premessa derivano le caratteristiche principali dell'opera. Una parte essenziale viene data, nella trattazione delle singole malattie, al quadro clinico, che è descritto ampiamente nelle sue manifestazioni abituali, in quelle più rare e nelle sue complicazioni, alla diagnosi differenziale ed alla terapia; più rapida, e a volte anche poco aggiornata pure per il 1956, specie per quanto riguarda alcune malattie da virus è la parte dedicata alla eziologia.

Le malattie sono raggruppate seguendo un criterio clinico pratico secondo la sintomatologia da esse presentata (malattie esantematiche, malattie a carattere settico); secondo l'organo o il sistema di organi in cui la malattia si manifesta in modo particolare (m. della gola, dell'intestino, del fegato, ecc.) o infine secondo che si

presentano con sintomi a carico di organi diversi o sistemi di organi differenti (mononucleosi infettiva, toxoplasmosi, infezioni da virus Coxsackie).

Breve la bibliografia, mentre invece è relativamente ricca la documentazione iconografica. Il libro è esclusivamente per il medico pratico.

I. Archetti

Jahn E.: *Insektenviren*. XII + 200 pp., 57 figg. di cui 2 a colori. Akademische Verlagsgesellschaft, Geest & Portig, Lipsia 1958. D.M. 24.

Dopo un rapido capitolo introduttivo sui virus in generale e sulle loro caratteristiche fisiche, biochimiche e biologiche, nel secondo vengono presi in considerazione i virus degli Insetti. E' qui che si trovano enumerate le specie in cui sino ad oggi si sono dimostrate malattie da virus e si accenna alla sintomatologia che ad esse si accompagna: sintomatologia appariscente, ma soprattutto quella interna a carico sia della cellula, con la formazione delle caratteristiche inclusioni (a tipo di poliedro, di capsula, ecc.), come dei tessuti in genere.

Vengono poi riferite con ampiezza di particolari le caratteristiche chimiche e fisiche proprie di questi virus; vengono esposti i vari metodi cui si può ricorrere per metterli in evidenza, come la centrifugazione frazionata, il trattamento delle inclusioni con acidi o alcali; viene considerata la relazione fra le particelle virali e le varie inclusioni. Sempre nello stesso capitolo vengono poi trattati argomenti riguardanti la trasformazione dei poliedri in strutture più piccole similari o a forma di capsula o di batterio; le alterazioni nella compagine cellulare in dipendenza dello sviluppo virale e le modificazioni tissulari che ne sono la conseguenza.

I virus degli Insetti hanno un elevato potere infettante, non solo specifico, ma anche per altre specie, particolarmente quelle appartenenti allo stesso ordine. Di ciò è brevemente trattato in alcune pagine, cui segue un accenno alla possibilità di infezioni latenti, con il connesso problema della trasmissione transovariale dei virus.

Un terzo relativamente lungo capitolo è dedicato alle malattie da virus vegetali e a quelle dell'uomo e degli animali domestici trasmesse dagli Insetti e da altri artropodi.

Chiudono questo breve trattato due capitoli, uno sui vari fattori che condizionano lo svilupparsi delle malattie da virus proprie degli insetti come anche su quelli che agiscono o influenzano il trasporto da parte degli insetti ed altri artropodi di virus causa di malattie, ed infine uno sulle teorie riguardanti la natura e l'origine dei virus in generale e di quelli degli Insetti in particolare.

Il libro della Jahn è abbastanza completo, chiaro e preciso: non dovrebbe mancare sul tavolo dello studioso che si occupa di questo argomento, specialmente se all'inizio della trattazione di questo speciale capitolo della biologia degli Insetti.

I. Archetti

Kaiser E. e Michl H.: *Die Biochemie der tierischen Gift*. 258 pp., 23 figg., 57 tab. Franz Deuticke, Wien, 1958. öst. S. 258.

La presente opera compilata dal Dott. Erich Kaiser, medico, e dal Dott. Heribert Michl, chimico, è la prima che tratti in maniera riassuntiva, critica e sistematica il tema dei veleni animali, soprattutto dal punto di vista biochimico, tuttavia senza tralasciare i loro aspetti farmacologico, serologico, tossicologico, terapeutico, nonchè zoologico e biologico. Tale argomento è stato insufficientemente trattato, sistematicamente, negli ultimi decenni, ed è stata quindi iniziativa coraggiosa quella dei due AA. di intraprendere la compilazione di questa opera consultando qualcosa come 10.000 pubblicazioni disperse nella letteratura di tutto il mondo in periodici appartenenti a materie molto diverse fra loro. Le notizie così raccolte sono state completate spesso dai dati sperimentali, a volta ancora inediti, degli AA. stessi dell'opera.

L'ordine di trattazione seguito è quello sistematico-zoologico: per ogni gruppo vengono riportate le notizie di biochimica, farmacologia, ecc., dei rispettivi veleni.

La letteratura è riportata in calce ad ogni pagina, sistema che, se pur comporta qualche ripetizione, è indubbiamente di notevole praticità per il lettore.

Non vi è dubbio che quest'opera, data la sua enorme utilità pratica per coloro che si dedicano all'argomento dei veleni animali, merita ogni considerazione. Pur notando qualche omissione nelle citazioni bibliografiche, purtroppo inevitabili data la vastità della letteratura, (manca, per esempio, qualsiasi riferimento, ai numerosi lavori pubblicati in Italia su *Latrodectus tredecimguttatus*), non si può in ogni modo che apprezzare l'opera, consigliarla ai biochimici, farmacologi, zoologi e parassitologi, nonchè ai medici e veterinari che intendano approfondire le loro conoscenze sugli effetti tossici e sui meccanismi di azione dei veleni animali.

L'edizione, molto curata, è presentata in una ottima veste tipografica.

S. BETTINI

« *Methods of Testing Chemicals* », a cura di HAROLD H. SHEPARD Vol. I, Burgess Publ. Co., Minneapolis, 1958, pp. 356. $ 5.00.

Questo primo volume dell'attesa opera sui metodi per lo studio dell'azione delle sostanza chimiche sugli insetti, raccoglie, a cura di SHEPARD, una serie di lavori sugli elementi (effetti delle sostanze chimiche sulla fisiologia degli insetti) e sugli argomenti più propriamente riguardanti le tecniche generali del trattamento degli insetti con sostanze chimiche. Il volume comprende i seguenti capitoli: 1) Penetrazione della cuticola (A. G. RICHARD); 3) Misurazioni della respirazione negli insetti (R. CRAIG); 4) Preparati elettrofisiologici in *Periplaneta americana* (K. D ROEDER e E. A. WEIANT); 5) Studio del sistema circolatorio negli insetti (R. L. PATTON); 6) Metodi impieganti materiale radioattivo (A. W. LINQUIST); 7) Studi sulla resistenza (W. V. KING); 8) Metodi riguardanti le applicazioni topiche e le inoculazioni (R. L. METCALF); 9) Metodi di somministrazione delle sostanze per ingestione (F. W. FISK); 10) Metodi di immersione (A. H. MCINTOSH); 11) Irrorazione di precisione (C. POTTER e M. J. WAY); 12) Polverizzazione di precisione (J. E. DEWEY); 13) Controllo dei fumiganti (R. T. COTTON); 14) Sinergismo ed antagonismo (N TURNER).

Gli AA. designati a redarre i singoli capitoli di questo volume sono fra i migliori competenti delle particolari branche; quindi non ci meraviglia che essi abbiano trattato gli argomenti in forma chiara, concisa ed esauriente. Tuttavia, ci sembra che lo scopo di questo primo volume, che è quello cioè di trattare « le fasi fondamentali e le tecniche generali » della materia non sia stato ancora completamente raggiunto. Per esempio, notiamo la mancanza di un capitolo riguardante i dosaggi di colinesterasi, nello studio dell'azione tossica degli esteri fosforici; come anche riteniamo che l'argomento dei dosaggi di DDT-declorurasi avrebbe potuto avere una trattazione più estesa. Queste lacune ci auguriamo saranno completamente colmate da un terzo volume che, secondo l'editore, dovrebbe (possibilmente) contenere, oltre che un riassunto di aggiornamento sui metodi recenti, anche argomenti essenziali che non sono apparsi nei volumi precedenti. Il secondo volume di quest'opera sarà dedicato a tecniche specializzate (impregnazione del legno, trattamento del terreno, acaricidi, ecc.).

Siamo fiduciosi che l'esperienza del Dr. SHEPARD eviterà che quest'opera presenti un non uniforme sviluppo dei vari aspetti della materia, come spesso si verifica nei trattati redatti da più di un autore. In ogni modo, l'opera, nel suo intento, è particolarmente preziosa in questo periodo critico dell'entomologia applicata, dominato in ogni suo ramo dal fenomeno della resistenza, periodo in cui tutti gli organismi preposti alla ricerca hanno mobilitato schiere di specialisti per lo studio ed il controllo di nuovi prodotti; quindi non si può che lodare il Dr. SHEPARD per questa sua iniziativa.

Dobbiamo essere grati ai singoli AA. per aver corredati i capitoli con numerosi, utilissimi, diagrammi e fotografie; la letteratura citata è stata riunita in una unica bibliografia finale.

La veste tipografica del volume non è fra le migliori.

S. BETTINI

RIVISTA DI PARASSITOLOGIA
Vol. XX - N. 2 - Giugno 1959

NOTIZIE

COSTITUZIONE DELLA SOCIETA' ITALIANA DI PARASSITOLOGIA

Il 6 maggio 1959, nell'aula dell'Istituto di Parassitologia dell'Università di Roma, invitati da un Comitato Promotore costituito dai Proff. E. Biocca, A. Corradetti e O. Starkoff, si sono riuniti numerosi cultori della parassitologia per costituire la Società Italiana di Parassitologia.

A nome del Comitato Promotore il Prof. Biocca ha illustrato le ragioni che facevano ritenere opportuna, se non necessaria, la fondazione della nuova Società. Un rappresentante del notaio Staderini ha quindi letto lo statuto proposto dal Comitato Promotore, statuto che, dopo una breve discussione che ha portato all'emendamento di due degli articoli, è stato approvato; si è quindi proceduto alla firma dell'atto costitutivo della Società.

Nel corso dell'assemblea è stato anche nominato il Comitato Direttivo Provvisorio nelle persone dei Proff. E. Biocca, E. Bronzini, A. Carta, A. Corradetti, V. Del Vecchio, M. Girolami e C. Piersanti. A presiedere il Comitato Direttivo Provvisorio è stato nominato il Prof. E. Biocca. Come sede provvisoria della Società è stato prescelto l'Istituto di Parassitologia, Città Universitaria, Roma.

Riportiamo lo Statuto (*) approvato:

Statuto della società italiana di parassitologia

Art. 1°

La Società Italiana di Parassitologia è una associazione di cultori della parassitologia.

Art. 2°

La Società ha sede in Roma. Potranno sorgere in altre città sezioni regionali che verranno costituite dal Consiglio Direttivo della associazione.

Art. 3°

La Società Italiana di Parassitologia si prefigge i seguenti scopi:

a) — riunire i cultori della Parassitologia;

b) — stimolare l'interesse per i problemi parassitologici e promuoverne lo studio

---

(*) Come dalla copia conforme rilasciata dal notaio Staderini.

c) — indire convegni e congressi;

d) — curare gli scambi culturali con istituzioni similari od affini italiane e straniere.

Art. 4°

Gli atti della Società verranno pubblicati su rivista specializzata in seguito ad accordo tra il Consiglio Direttivo e la rivista stessa e comunque nei modi ritenuti.

Art. 5°

Possono essere soci dell'associazione tutte le persone fisiche o giuridiche cultori della parassitologia e tutti coloro che a qualsiasi titolo abbiano interesse allo studio della Parassitologia stessa.

Art. 6°

La Società Italiana di Parassitologia è retta da un Consiglio Direttivo composto di sette membri da scegliersi tra i soci. I Consiglieri vengono eletti dalla Assemblea e durano in carica tre anni. I Consiglieri eleggono nel proprio seno un Presidente, ed un Vice Presidente. L'elezione del Presidente, del Vice Presidente e quella dei consiglieri avverrà a maggioranza assoluta. I Consiglieri una volta eletti nomineranno un Segretario generale da scegliersi tra i soci al di fuori dei Consiglieri stessi.

Art. 7°

Al Consiglio Direttivo spettano tutti i più ampi poteri di ordinaria e straordinaria amministrazione dell'Associazione ivi compresa quella di fissare le quote sociali. Al Presidente spetta la rappresentanza dell'associazione di fronte ai terzi ed in giudizio.

Art. 8°

L'assemblea dei soci è costituita da tutti i soci in regola con il pagamento delle quote sociali. Essa è valida in prima convocazione se sono presenti almeno la metà dei soci più uno, in seconda convocazione qualunque sia il loro numero.

Art. 9°

L'assemblea dei soci è convocata in seduta ordinaria anche per referendum una volta l'anno per l'approvazione del bilancio sociale. L'Assemblea dei soci potrà essere convocata in seduta straordinaria ogni qualvolta il Consiglio Direttivo ne ritenga necessario od opportuno. I soci potranno farsi rappresentare in assemblea con delega scritta ad altro socio, ogni socio non potrà avere più di due deleghe.

Art. 10°

Congressi e riunioni della Società Italiana di Parassitologia verranno indetti dal Consiglio Direttivo con periodicità da stabilirsi.

Art. 11°

L'esercizio sociale va dal primo gennaio al 31 dicembre di ciascun anno; il bilancio della Società verrà approvato ed effettuato dal Consiglio Direttivo e sottoposto all'approvazione della assemblea dei soci.

Art. 12°

Eventuali modifiche al presente statuto potranno essere deliberate dall'Assemblea dei Soci con maggioranza di due terzi dei soci stessi.

* * *

La nostra Rivista ha voluto esprimere la sua soddisfazione per la costituzione della Società Italiana di Parassitologia inviando a cura del suo Direttore la seguente lettera:

Roma, 6 maggio 1959

Chiar.mo Prof. Ettore Biocca
Presidente del Comitato Direttivo Provvisorio
della Società Italiana di Parassitologia
p/ Istituto di Parassitologia
Città Universitaria

ROMA

Ill.mo Sig. Presidente,

A conoscenza dell'avvenuta costituzione, in data odierna, della Società Italiana di Parassitologia questa Rivista, che ha la serena coscienza di essere stata nel corso dei suoi ormai 20 anni di vita attiva fattore non trascurabile dello sviluppo della parassitologia in Italia, desidera esprimere il suo plauso alla iniziativa ed auspicare le maggiori fortune al nuovo organismo.

Nel desiderio di contribuire alla affermazione della Società Italiana di Parassitologia, questa Rivista domanda di essere tenuta in considerazione, in sede di applicazione dell'art. 4 dello Statuto della Società, quale possibile organo per la pubblicazione degli Atti della Società.

Oltre ad essere disposta a porre le migliori condizioni economiche di pubblicazione, questa Rivista si permette infatti di far presente di essere l'unica rivista strettamente specializzata del ramo che a tutt'oggi si pubblichi in Italia, e che essa ha già quella autorità e diffusione in campo nazionale ed internazionale da farne il miglior veicolo per la diffusione degli Atti della Società.

Gradisca ancora, Ill.mo Sig. Presidente, il nostro sincero augurio per il Sodalizio da Lei presieduto, ed i migliori saluti.

Il Direttore: DOTT. E. MOSNA

PRIMA ASSEMBLEA DELLA SOCIETA' ITALIANA DI PARASSITOLOGIA E CONVOCAZIONE DEL PRIMO CONGRESSO DELLA SOCIETA'

Il 25 giugno 1959 ha avuto luogo la prima Assemblea della Società Italiana di Parassitologia con il seguente ordine del giorno:

1) Nomina del Comitato Direttivo;
2) Comunicazioni;
3) Varie eventuali

Aperta la seduta (Presidente: Prof. A. CIMMINO; Segretario: Prof. A. ASCENZI), l'Assemblea ha proceduto alla nomina del Consiglio Direttivo confermando all'una-

nimità, su proposta del Prof. V. PUNTONI, i membri del Comitato Direttivo Provvisorio.

Il Prof. E. BIOCCA ha quindi dato comunicazione del lavoro fino allora svolto dal Comitato Direttivo Provvisorio, specie in relazione alla organizzazione del primo congresso della Società. Per questo è stata proposta la sede di Sassari e la data dal 21 al 26 settembre 1959, sede e data che l'Assemblea ha approvato all'unanimità.

Su proposte dei Proff. E. BIOCCA e B. URSO l'Assemblea ha infine acclamato come Presidenti onorari della Società i Proff. D. MAROTTA, V. PUNTONI e G. RAFFAELE.

Direttore responsabile: Dott. E. MOSNA

Soc. An. Poligrafica Italiana — Roma, Via della Guardiola, 22